ANNALES
DE MICROGRAPHIE

SPÉCIALEMENT CONSACRÉES

A LA BACTÉRIOLOGIE

AUX PROTOPHYTES ET AUX PROTOZOAIRES

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

SPÉCIALEMENT CONSACRÉES

A LA BACTÉRIOLOGIE

AUX PROTOPHYTES ET AUX PROTOZOAIRES



RÉDACTEUR PRINCIPAL

P. MIQUEL, Docteur en médecine, Docteur ès-Sciences
Chef du Service micrographique à l'Observatoire municipal de Montsouris

SECRÉTAIRES DE LA RÉDACTION

FABRE-DOMERGUE, Docteur ès-Sciences, Directeur adjoint du laboratoire de Zoologie maritime de Concarneau.

Ed. DE FREUDENREICH, Chef du Service bactériologique de la Station agricole de la Rütti (Berne).

TOME PREMIER

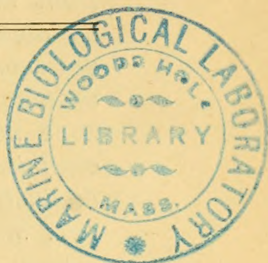
1888-89

PARIS

GEORGES CARRÉ, ÉDITEUR

58, RUE SAINT-ANDRÉ-DES-ARTS

ANNALES
DE MICROGRAPHIE



INTRODUCTION

A une époque où les recherches microscopiques font l'objet des travaux d'un grand nombre de savants, et où la médecine, l'hygiène et les sciences naturelles réclament du microscope la résolution des problèmes les plus difficiles et les plus obscurs, il nous paraît superflu de faire ressortir l'utilité d'une publication, dont le but est de présenter sans retard au lecteur, tant au moyen de mémoires originaux que d'analyses scrupuleuses, les travaux de micrographie parus en France et à l'Etranger. Les nouvelles méthodes d'investigation essentiellement perfectibles dans une science encore jeune, à peine âgée d'un demi-siècle, prendront également une place importante dans le plan que nous nous sommes tracé.

Une tâche aussi étendue ne pouvait être l'œuvre d'un seul; mais nous avons pensé qu'avec l'aide des savants qui ont bien voulu nous honorer de leur précieuse collaboration, ce vaste programme pourrait être rempli avec tout le soin et la compétence désirables.

Notre revue de micrographie s'occupera surtout de l'étude des protophytes et des protozoaires; les questions relatives à la bactériologie, aux cryptogames inférieurs, aux infusoires, y seront traitées par des spécialistes dont les travaux en ces matières sont bien connus et justement appréciés.

La bactériologie est déjà une science assez vaste pour exiger le concours de savants d'ordres divers: des botanistes, appelés à nous éclairer sur la morphologie de ces

espèces inférieures; des médecins, dont le rôle est de rechercher leur action nocive sur l'économie animale. Dans un monde, à un degré plus élevé du règne végétal, les algues et les cryptogames microscopiques présentent des subdivisions nombreuses à l'étude desquelles plusieurs savants ont consacré toute une vie de labeur. Ici encore, nous nous trouvons en présence de parasites, dont la connaissance intéresse au plus haut point l'agriculture, l'industrie, et nous devons ajouter quelques chapitres de l'art médical. Enfin, parallèlement aux organismes inférieurs du monde végétal, vit et se multiplie toute une classe d'êtres microscopiques: les rhizopodes, les sporozoaires, les infusoires, dont l'étude constitue, au point de vue général, une branche d'autant plus attrayante que nous y trouvons la cellule animale à l'état rudimentaire.

Dans des articles spéciaux, nous ne craindrons pas d'insister sur le côté technique de toutes les questions de la micrographie, car nous connaissons les difficultés qui arrêtent l'observateur au seuil des sciences physiques et naturelles; ces difficultés, nous pensons qu'on peut considérablement les aplanir en donnant la description précise et détaillée des manipulations et des tours de main qui constituent presque toute la science des laboratoires, et sans la connaissance desquels l'expérimentateur novice erre malheureusement longtemps autour d'une question avant de pouvoir l'aborder de front, l'entreprendre et la résoudre.

Bien que l'histologie végétale et animale, normale et pathologique, ne rentre pas dans le cadre des sujets qui seront traités par les rédacteurs des Annales de Micrographie, *nous nous ferons cependant un devoir de tenir le lecteur au courant des recherches importantes, intéressant l'histoire de la cellule.*

Nous espérons que cet organe des sciences micrographiques recevra un accueil favorable du public auquel il s'adresse; de leur côté, les rédacteurs de la revue uniront leurs efforts pour en rendre la lecture aussi profitable que possible.

MÉMOIRES ORIGINAUX

MONOGRAPHIE D'UN BACILLE
vivant au-delà de 70° centigrades

PAR

Le Dr P. MIQUEL



Dans un de ses mémoires remarquables sur les bactéries (1), le professeur Cohn, de Breslau, a décrit les curieuses expériences qu'il a pratiquées avec le bacille du foin *(Bacillus subtilis)*, qu'on considérait à cette époque comme l'organisme bactérien pouvant résister avec le plus d'énergie à l'action de la chaleur. Les conclusions de ce savant microbotaniste sur ce sujet se résument dans les lignes suivantes :

1° A une température de 47 à 50°, le bacille se multiplie encore rapidement, en formant comme d'habitude des membranes et des spores, tandis que les autres schizophytes qui existent dans l'infusion de foin deviennent, à cette température, impropres à la reproduction ;

2° A un degré de chaleur compris entre 50 et 55°, toute reproduction et tout développement des bacilles cesse, il ne se forme ni pellicules ni spores, les filaments errants en voie de croissance sont tués ; les spores conservent au contraire plus longtemps (pour le moins 17 heures) la propriété de germer.

Trois ans plus tard, j'ai démontré que cette température limite de 55° est bien inférieure au degré de chaleur que peut supporter un bacille spécial (2) dont on trouve également la description dans l'*Annuaire de Montsouris* pour l'année 1881, page 464. Il existe dans les eaux communes,

---

(1) Cohn, *Beitr. zur. Biol. der Pflanzen*, Bd. II, page 271.

(2) *Bulletin de la Statistique Municip. de Paris*, n° de Décembre 1879.

disais-je à cette époque, un bacille immobile ou une bactéridie filamenteuse pour laquelle la température de 69°-70° centigrades est encore très supportable. A 69°-70°, elle fournit des filaments, des pellicules et des graines dont le luxe de végétation et la fécondité ne laissent rien à désirer. Au bout de 2 jours de culture, ces bacilles se développent en si grand nombre qu'ils viennent former au fond du vase une sorte de boue uniquement composée de filaments et de granulations brillantes. Le bouillon Liébig exhale alors une odeur putride spéciale, rappelant les vieux détritus cadavériques. Ce même bacille peut se cultiver à 70°-71°, il peut se développer à 64°-65° dans l'urine normale acide, et à 66°-68° dans une infusion de chair musculaire fraîche.

Quelque temps après l'apparition de mon mémoire, M. Van Tieghem (1) annonça à son tour qu'il avait vu des bactériacées pouvant vivre au-delà de 73°.

Plus récemment (2), le docteur Globig, qui a fait une étude des schizophytes capables de croître entre 50 et 70°, a vraisemblablement rencontré l'espèce que j'ai signalée; toutefois, il oublie de mentionner le fait si extraordinaire de la vie à 70°, découvert huit ans auparavant par un expérimentateur français et aujourd'hui encore révoqué en doute par quelques bactériologues.

« M. Miquel, s'exprime M. Van Ermengem (3) dans son *Traité de Microbiologie,* croit connaître un bacille vulgaire capable de se multiplier à une température dépassant de 15° celle qui provoque la coagulation de l'albumine de l'œuf, etc.... Avant de considérer ces observations comme des faits acquis, elles auraient besoin d'être contrôlées, et les organismes doués d'une vitalité aussi extraordinaire devraient être isolés par des cultures pures. »

M. Van Ermengem aurait pu s'éviter ce commentaire gratuit s'il avait pris la peine de répéter mes expériences. Quoi qu'il en soit de ces critiques toutes théoriques, voici

---

(1) *Bulletin de la Société botanique de France,* Janv. 1881, p. 35.

(2) Dr Globig, *Zeitschrift für Hygiene,* III, 2, 1887.

(3) Van Ermengem, *Traité de Microbiologie,* 1887, p. 22.

comment on peut découvrir, isoler et cultiver le bacille thermophile que j'ai mentionné en 1879.

La culture des bactéries à haute température nécessite un matériel spécial que je dois décrire succinctement tout d'abord. Au-delà de 50°, les étuves à air sont très difficiles à régler, les liquides des cultures se réchauffent avec beaucoup de lenteur, l'équilibre de la température s'établit difficilement, et, chose plus grave, le degré de chaleur de la culture diffère souvent du degré de chaleur de l'air qui la baigne.

J'ai indiqué en 1881 l'utilité que présentait en pareil cas l'usage des bains liquides d'un volume voisin de 10 à 12 litres. En munissant ces bains d'un régulateur convenable d'Arsonval ou de Schlœsing, on arrive à les maintenir à un degré de chaleur presque fixe, à la condition de diriger le gaz qui les chauffe à travers un régulateur à pression constante. Aujourd'hui, j'emploie de préférence une étuve d'Arsonval dont la chambre intérieure est remplie d'huile d'œillette, ce qui dispense de munir le bain d'un niveau constant, toujours nécessaire quand on emploie de l'eau ou tout autre liquide capable d'émettre d'abondantes vapeurs entre 70 et 74° (1).

Les bains liquides exigent l'usage de vases à culture spéciaux. On peut à cet effet employer des matras, des appareils à boule, des tubes à essais étranglés munis d'une cheminée venant chercher l'air à la surface des bains. Ces appareils sont lestés de façon à maintenir la culture au centre de la masse liquide. Dans ces conditions, la différence de température entre le bain et le liquide de la culture est à peine appréciable; on observe au contraire une différence de 1 à 2/10 de degré entre le liquide de la culture et l'atmosphère qui le surmonte. Quoi qu'il en soit de toutes ces précautions, ces sortes de bains à haute température doivent être surveillés journellement, afin de

(1) Je dois ajouter, pour éviter toute déception à quelques expérimentateurs, que l'étuve d'Arsonval est rapidement mise hors d'usage, ce qui tient au durcissement de la membrane de caoutchouc entre 60° et 70°; il sera donc préférable, dans ce cas, de régler le bain annulaire d'Arsonval avec un régulateur à mercure de Schlœsing.

remédier aux variations qui peuvent se présenter sous l'influence des causes perturbatrices les plus légères.

Obtention du bacille thermophile.— Dans un bain d'huile, réglé vers 69°, on immerge plusieurs vases contenant du bouillon de peptone stérilisé à réaction légèrement alcaline. Au bout d'une heure, quand la température du bouillon est égale à celle du bain, on laisse tomber dans chaque vase une goutte d'eau d'égout ou de vidange. 24 heures plus tard, les vases sont troubles et renferment presque tous le bacille thermophile.

Le bain est alors porté à 71°, on introduit de nouveaux vases de bouillon, et, avec un fil de platine flambé, on contamine les conserves saines avec une gouttelette infinitésimale du liquide des conserves altérées. On fait ainsi trois à quatre cultures successives pour se débarrasser des germes étrangers apportés par la goutte d'eau d'égout ou de vidange au moment du premier ensemencement. Pour s'assurer d'ailleurs définitivement que le bouillon ne renferme plus que des espèces thermophiles, on fait un dernier ensemencement avec une ou deux gouttes de bouillon altéré de la 3me ou 4me génération dans un bouillon neuf que l'on maintient à 40°; ce bouillon ne doit pas visiblement s'altérer à cette température, il doit encore conserver toute sa limpidité au bout de huit à quinze jours.

On procède alors à l'isolement de l'espèce bacillaire, soit par la méthode du fractionnement, soit par le procédé des plaques de gélose nutritives; le bacille thermophile croît très bien dans ce milieu à la température de 60°.

Caractères du bacille thermophile. — Cet organisme aérobie est formé de filaments immobiles, rigides, de longueur très variable, d'une épaisseur voisine de 1 μ; son aspect diffère, d'ailleurs, suivant la température à laquelle on le cultive. Je me propose plus tard de revenir sur les curieuses variations morphologiques qu'il présente entre 42° et 72°; je donnerai provisoirement les indications suivantes qui permettent de le distinguer des espèces thermophiles analogues.

A 50°, le *Bacillus thermophilus* est généralement court, il

se présente en bâtonnets le plus souvent munis à l'une de leurs extrémités d'une spore unique, ovale, très réfringente.

A 60°, les filaments s'allongent visiblement, les spores brillantes sont devenues moins fréquentes.

A 70°, les filaments longs sont toujours nombreux, mais ils présentent un aspect granuleux spécial qui, dans les cultures vieilles de quelques jours, donne au protoplasma l'aspect d'un liquide mélangé à des gouttelettes huileuses.

A 71°-72°, le bacille se présente en articles bosselés ayant quelquefois l'aspect de chaînes moniliformes, les spores brillantes font absolument défaut et, au bout de quelques jours, les bacilles sont réduits en amas formé de granulations de toutes grandeurs.

Aspect macroscopique des cultures du Bacillus thermophilus. — La culture de ce bacille ne peut s'effectuer sur la gélatine maintenue vers 22 à 23°; tous les ensemencements pratiqués sur ce milieu restent inféconds, même après un mois d'attente; le même fait s'observe sur la gélose chauffée entre 30 et 40°. A 42-45°, la gélose rendue nutritive avec de la peptone, piquée au fil de platine, montre, après quelques jours d'incubation, une tache blanche en forme de ménisque bombé. Cette tache blanche, examinée au microscope, est constituée par un bacille court, dodu, muni d'une spore terminale très réfringente. La gélose permet d'obtenir de très belles cultures du *Bacillus thermophilus* à 50°, 60° et 65°; à 70°, la gélose nutritive, même à 2 °/₀, se ramollit, se déforme, se disloque et surtout se dessèche très rapidement quand elle n'est pas contenue dans des vases scellés.

Avant 40°, le bouillon ensemencé avec le bacille qui nous occupe ne se trouble pas, même après 30 jours d'attente; dès 42°, il fournit au contraire des cultures dont le trouble est appréciable au bout de 3 à 4 jours; au microscope, les bacilles qu'on y observe sont chétifs et languissants. A 50°, le trouble est au contraire très net au bout de quarante-huit heures; à 60°, il est apparent dès le lendemain et s'accompagne de la formation de voiles légers aisément dissociables. La température comprise entre 65°

et 70° me paraît la plus favorable au développement de cette espèce; en 12 heures, le bouillon est devenu manifestement trouble; mais à partir de 70°, le bouillon s'infeste plus difficilement; si, à cette température, l'envahissement du liquide nutritif est encore appréciable au bout de 24 heures, il n'est apparent, à 71°, qu'au bout de 2 jours. A 72°, le bacille croît très mal, il donne à peine dans le bouillon un dépôt léger, floconneux, formé d'articles courts, boursoufflés, granuleux, microccoformes.

Ainsi, de 42° à 72°, le bacille thermophile se multiplie visiblement dans le bouillon peptonisé; en dehors de ces limites, rien n'apparaît dans le milieu liquide où on l'ensemence. De plus, des cultures en pleine activité que l'on porte soit au-dessous de 42°, soit au-dessus de 72°, se clarifient rapidement : les microbes se précipitent au fond du vase où ils vont former un dépôt plus ou moins volumineux. Les cultures sur la gélose cessent de s'accroître.

Habitat du Bacillus thermophilus. — Je dois d'abord déclarer qu'on trouve très rarement le bacille en question dans les poussières de l'air, où le *Bacillus subtilis,* le *Bacillus ulna* et bien d'autres desmodobactéries se rencontrent très fréquemment; cependant, dans des bourres ayant servi à filtrer 200 à 300 mille litres d'air, j'ai pu découvrir plusieurs fois ce bacille au sein d'un million de schizophytes divers. Le *Bacillus thermophilus* se rencontre surtout dans les eaux et sur le sol. Les eaux de sources en sont cependant privées; au contraire, on peut l'isoler des eaux de rivières. L'eau de la Seine, puisée à Ivry et au pont d'Austerlitz, peut en montrer un millier par litre; en aval de Paris, ce bacille devient plus fréquent. Il habite par excellence les eaux sales d'égout et de vidange, où il peut atteindre le nombre de 150.000 à 500.000 par litre; on le rencontre également à la surface du sol, dans la boue des ruisseaux, mais il paraît absent dans la terre prélevée à un mètre de profondeur et dont la température ne s'élève pas au-delà de 15°, même pendant les plus fortes chaleurs de l'été.

Le *Bacillus thermophilus* se rencontre dans le tube intestinal de l'homme et des animaux, ce qui démontre

qu'il peut se développer faiblement dès la température de 37°-40° ; ce fait peut d'ailleurs être vérifié par l'analyse micrographique, bien que l'aspect des conserves nutritives où on l'ensemence puisse faire croire le contraire. Enfin, le *Bacillus thermophilus* est une espèce dépourvue de virulence à l'égard des animaux. Inoculé sous la peau, dans les veines, dans les cavités séreuses de l'économie, il disparaît rapidement sans déterminer de troubles morbides appréciables. Ce résultat était facile à prévoir pour une espèce dont l'énergie vitale est si faible aux températures des animaux à sang chaud. Les ptomaïnes sécrétées par cet organisme à 60° et 70° sont, de même, sans effet sur les lapins et les cobayes.

Quand on suit le *Bacillus thermophilus* dans ses migrations à la surface du sol, dans les eaux, et qu'on cherche à remonter aux foyers qui le produisent, on est amené à lui attribuer, du moins dans nos climats, une origine domestique. Absent dans les eaux de sources, il apparaît de plus en plus nombreux dans les eaux de rivières, au fur et à mesure qu'elles se contaminent ; très fréquent dans les eaux d'égout, il se montre également abondant dans les eaux de vaisselle, d'essangeage et de vidange, où il paraît jouer le rôle peu actif et inoffensif d'agent saprogène; mais que la température de ces eaux s'élève au-delà de 50°, il accomplit sa mission d'agent putréfacteur avec une activité remarquable.

Conclusions. — 1° Contrairement aux doutes émis par plusieurs savants, il existe un bacille pouvant vivre et prospérer à une température supérieure à 70°, c'est-à-dire à un degré de chaleur où les cellules animales sont anéanties en quelques secondes, où la main, par exemple, est cruellement brûlée, où l'albumine d'œuf et le sérum de sang sont rapidement coagulés. Fait instructif qui prouve et démontre, chez certaines bactéries, l'existence d'un liquide protoplasmique différent de ceux qui se rencontrent dans les humeurs de l'économie animale et les liquides vivants des représentants élevés du règne végétal ;

2° Cette observation vient en outre corroborer mes affirmations antérieures, à savoir que la méthode du *chauffage*

discontinu, employé par le D[r] R. Koch pour stériliser à 58 et à 68° divers milieux nutritifs, ne saurait être efficace quand ces milieux renferment les germes du bacille que je viens de décrire;

3° Il ressort de même des faits que je viens d'exposer : que les cultures sur plaque de gélatine ne peuvent déceler en aucune manière, sous forme de colonies, le *Bacillus thermophilus*, et en général toutes les espèces microscopiques qui exigent pour se multiplier une température supérieure à 25°; que les procédés d'analyses dits des plaques de gélatine ne sont applicables ni à la détermination qualitative, ni à la détermination quantitative de ces espèces, et, enfin, que les statistiques obtenues après une incubation à basse température sont altérées dans leur sincérité, plus ou moins, suivant que les espèces thermophiles se trouvent en grande ou faible quantité dans les milieux que l'on explore.

OBSERVATIONS SUR LES LEVURES DE BIÈRE

PAR

Dr EMIL CHR. HANSEN

Chef du laboratoire de physiologie de Carlsberg (Copenhague)

Mes recherches, effectuées sur la pratique industrielle des fermentations (1), reposent sur l'idée que les saccharomyces sont des espèces bien distinctes, et que les caractères établis par moi pour chacune d'elles sont constants. Si ces organismes, comme quelques savants sont portés à le croire, pouvaient facilement se fondre les uns dans les autres, et qu'il n'existât pas entre eux de limite appréciable, mes travaux perdraient la plus grande partie de leur valeur au point de vue pratique.

Il est dans la nature des choses qu'une recherche systématique, sur les levûres, doit commencer par l'étude des endospores, et qu'elle soit avant tout expérimentale. Tel a été le point de départ de mes travaux dans ce domaine. Ces travaux nous ont non seulement appris qu'il y a plusieurs espèces de saccharomyces, mais ils nous ont démontré en même temps, pour la première fois, qu'il existe pour chacune d'elles des caractères très précis. Si nous avons constaté que les courbes des températures du développement de leurs spores ont en général la même forme, par contre, les points principaux, ceux qui dépendent des températures maxima et minima, offrent des caractères distinctifs. A d'autres points de vue, nous avons également appris qu'il y a des différences notables dans la manière dont ces espèces réagissent contre la chaleur : dans l'eau distillée, par exemple, la mort survient, toute chose égale d'ailleurs, pour certaines espèces à des températures différentes, et on observe également chez elles des variations relatives au bourgeonnement, au pouvoir fermentatif, à la production des voiles, etc....

---

(1) *Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg*, vol. II, 5me livraison. Copenhague, 1888.

Lorsqu'on cultive les saccharomyces dans des conditions identiques, la forme des cellules peut fournir des caractères spéciaux pour des groupes, et quelquefois aussi pour des espèces: tel est le cas de la levûre de fond et des végétations des voiles; ces caractères s'observent, non seulement quand la culture se pratique dans des liquides, mais aussi quand elle a lieu sur un *substratum* nourricier solide. Presque toutes les espèces du genre saccharomyces peuvent sans doute apparaître avec les mêmes formes, et la plupart du moins, sinon toutes, peuvent, dans leur évolution, devenir chacune tour à tour les espèces établies par M. Reess, mais les mêmes formes ne se montrent pas chez les différentes espèces dans les mêmes conditions; leur caractère ne gît donc pas dans la forme seule comme on le supposait auparavant, mais en même temps dans les conditions extérieures qui la produisent. Ces organismes présentent également des différences dans leur action sur les sucres, notamment sur la maltose, et en général dans les réactions chimiques qu'ils provoquent au sein des liquides nourriciers. Quelques-uns peuvent être employés dans l'industrie, d'autres y sont inutilisables; enfin, il en existe aussi qui provoquent des maladies dans la bière. J'ai également observé des différences graduelles dans la manière dont ces organismes se comportent vis-à-vis de plusieurs méthodes de coloration. La différence qui, dans certaines conditions de cultures, se manifeste dans la structure des spores des levûres industrielles et des levûres sauvages, semble de plus grande importance au moins pour l'analyse pratique (1).

---

(1) Les recherches que je viens de mentionner ont été publiées dans les Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg pour les années 1882, 1883, 1886 et 1888. Dans une conférence tenue à Graz, le 12 juin 1887, j'ai fait une courte communication sur les caractères des cellules de levûre cultivées dans les milieux nutritifs solides, et sur la différence ci-dessus mentionnée dans la structure des spores (Voir *Bulletin de la Société d'encouragement pour l'industrie nationale*, Paris, 1887, p. 494, et *Centralbl. für Bacteriologie und Parasitenkunde*, 1887, II, B., p. 118).

Les noms de *levûre industrielle*, de *levûre de bière*, d'*espèce de culture*, etc., ne signifient pas que ces espèces aient pris naissance sous l'action d'une culture, car nous ne savons encore rien à ce sujet, mais seulement qu'elles sont employées par l'industrie. Tous les autres saccharomyces sont, par opposition, appelés des *levûres sauvages*. Dans l'état actuel de la science, nous devons admettre que les *levûres sauvages* se trouvent dans la nature aussi bien que les *levûres industrielles*.

Il va sans dire qu'on ne peut pas, dans tous les cas, distinguer les espèces entre elles à l'aide d'un seul des caractères indiqués plus haut ; il faut, le plus souvent, en rechercher plusieurs. Les plus importants sont ceux que présente la marche du développement des spores, comme je l'ai pris pour base de ma méthode analytique des levûres basses de bière, par la raison que ces caractères permettent, sans culture pure préalable, d'entreprendre directement l'analyse d'une lèvûre basse de brasserie, dans laquelle il importe de s'assurer de la présence ou de l'absence des levûres de maladies (Voir le *Compte rendu du laboratoire de Carlsberg,* 1886, p. 88, et 1888, p. 137.)

Il est relativement facile de produire en divers sens des variations temporaires, souvent profondes des levûres, mais une culture convenable les fait disparaître, et l'espèce sur laquelle on a opéré revient à son état primitif; jusqu'à présent, je n'ai pas réussi à produire de nouvelles espèces. Un résultat, qui a pour nous un intérêt pratique, réside dans cette observation : que les levûres n'ont éprouvé que de petites oscillations durant une culture dans le moût de bière poursuivie sans interruption pendant plusieurs années. Je mentionnerai ici, avec quelques détails, deux séries de recherches qui intéressent spécialement l'art du brasseur.

Cette première série traite des particularités individuelles que peuvent présenter les levûres basses des brasseries; je ne parlerai ici que des modifications qui se manifestent dans la forme des cellules. Ainsi envisagée, la question offre évidemment une importance pratique au point de vue de la préparation des cultures pures, soit pour l'usage des laboratoires, soit pour l'exploitation.

On se rappelle que, d'après ma méthode, le point de départ des ensemencements est toujours une cellule *unique* (1).

---

(1) Il convient à cette place de dire quelques mots de mes méthodes pour la culture des levûres à l'état de pureté.

Les méthodes qui existaient quand je commençais à m'occuper spécialement de cette question, vers 1880, étaient bien loin de donner une certitude suffisante. Dans le courant de l'année suivante, je réussis par mes recherches à trouver et à mener à bonne fin un procédé qui permettait d'atteindre une certitude désirable, et en février

Supposons, par exemple, que nous ayons obtenu par ce moyen une culture absolument pure de la levûre basse n° 1 de Carlsberg; je choisis précisément cette espèce, parce que c'est avec elle qu'ont été faites la plupart de mes

---

1882 je publiai ma première communication sur ce sujet (*Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg*, vol. I, 4[me] livr., pages 207 et 212).

Pour arriver à obtenir une culture absolument pure, j'employai des ballons Pasteur contenant du moût de bière stérilisée, et j'opérai avec des dilutions de levûres telles que je ne fécondai qu'une partie des ballons ensemencés. Ce qu'il y avait de nouveau dans ma méthode était surtout la découverte d'une indication pour distinguer les ballons qui n'avaient rèçu qu'une seule cellule de ceux qui en avaient reçu plusieurs. J'avais en effet observé que les cellules séparées entre elles par une vive agitation, et réparties dans un liquide nourricier, se déposaient plus tard sur le fond des vases à des places différentes pour y former des taches de levûres tout à fait distinctes. J'avais ainsi créé la première méthode exacte de dilution, que j'employai pour obtenir les cultures pures des six espèces de saccharomyces que j'ai introduites en 1883 dans la littérature scientifique avec plusieurs autres levûres. C'est également sur cette méthode que je me suis basé pour faire mes travaux sur les différents facteurs qui interviennent dans la production des spores, sur les courbes thermiques qui régissent leur développement dans les six espèces que je viens de mentionner, et sur les maladies que certains saccharomyces provoquent dans la bière.

Dès 1882, je publiai une courte communication sur les plus importants de ces travaux (*l. c.*, pages 206 et 216). J'avais donné ainsi, pour le dire en un mot, la base complète de mes études sur les levûres. Pour toutes les expériences que je fis à cette époque, je me servis uniquement de milieux liquides, car on ne connaissait pas encore alors le perfectionnement d'une si haute importance au point de vue technique qui réside dans l'emploi de la culture sur plaques de M. Koch (dissémination des cellules dans la gélatine nutritive).

J'ai surtout donné ces éclaircissements historiques pour répondre aux affirmations de quelques savants allemands qui ont tenté de démontrer que mes études avaient eu pour point de départ le procédé de culture sur plaques de Koch. L'ordre chronologique de la publication de mes travaux montre à l'évidence l'impossibilité de ce fait. M. Koch a publié, en 1883, sa méthode des plaques qu'il avait presque complètement élaborée dès l'automne 1882. Antérieurement à cette époque, il faisait ses cultures d'après son premier procédé beaucoup moins parfait (stries ou piqûres dans de la gélatine nutritive).

Plus tard, comme je l'ai déjà indiqué, j'ai appliqué dans beaucoup de cas le procédé de la gélatine, qui présente sur celui des liquides l'avantage d'une plus grande simplicité, mais en y introduisant une modification essentielle qui consiste à la combiner avec le principe de la culture provenant *d'une seule cellule;* modification qui permet d'obtenir une plus grande sécurité (*Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg*, 1883 et 1886).

Mes critiques auraient pu se convaincre de la parfaite exactitude de ce que je viens de dire, s'ils s'étaient tenus au courant des mémoires qui traitent de cette question; mais, tantôt ils se sont contentés de recherches bibliographiques trop superficielles, tantôt ils ont été, je dois le craindre, aveuglés par la partialité.

Il faut rappeler également ici que l'on avait obtenu des cultures pures longtemps avant que M. Koch et moi eussions publié nos méthodes; mais, je le répète, ces cultures ne présentaient pas la même garantie. Malgré les grands progrès qui ont été faits dans cette voie, surtout dans ces dernières années, le but visé n'est pas encore à mon avis complètement atteint.

expériences. Nous semons ensuite, au hasard, quelques cellules de cette culture pure dans une couche de gélatine nourricière étendue à la face inférieure de la lame de verre fixée à une chambre humide, nous observons ensuite les cellules dont la position permet à chacune d'elles de former une tache de végétation distincte, incapable de se confondre avec les colonies voisines. Ces taches, que nous savons avec certitude procéder d'une seule cellule, sont souvent très différentes : les unes se composent de cellules dont la forme allongée et en boudin peut les faire rapporter, d'après Reess, au *Sacch. pastorianus;* les autres paraissent avec la forme sous laquelle on a l'habitude de représenter le *Sacch. cerevisiæ*. Cependant, elles appartiennent toutes les deux à la même espèce et proviennent toutes les deux de l'ensemencement d'une seule cellule de cette espèce. On peut d'ailleurs en avoir une nouvelle preuve en poursuivant l'expérience.

Avec ces taches on infecte plusieurs ballons renfermant du moût de bière, en ayant soin que tous les ballons d'une première série ne reçoivent que des cellules de la forme pastorienne, et que chaque ballon d'une seconde série ne reçoive que des cellules de la forme cerevisiæ. Les végétations qu'on obtient ainsi dans le moût présentent la même différence de forme; mais, en continuant les cultures, cette différence entre les deux séries diminue constamment, les cellules en boudin disparaissent peu à peu, de sorte qu'à la fin toutes les végétations ne se composent plus que de cellules ovales. Dans un cas, cependant, j'ai dû entreprendre 7 cultures avant que les cellules ovales eussent acquis la prépondérance dans les ballons qui avaient été ensemencés avec des cellules en forme de boudin. Cette expérience dura environ deux mois.

La forme ovale fut cultivée de la même manière dans le moût de bière, où elle continua à rester ovale. Les deux formes produisirent une bière identique, montrant aussi par là qu'elles appartenaient à une seule et même espèce. Ces expériences nous démontrent, entre autres faits, qu'il existe des différences dans les facultés inhérentes aux diverses cellules d'une même espèce; par conséquent, que nos recherches microscopiques sur les taches de levûre,

comme leur première culture dans le moût, ne peuvent nous fournir des renseignements certains sur l'espèce considérée; elles nous apprennent, en outre, que si on désire adopter comme caractère spécifique la réaction des cellules contre les influences extérieures, il ne faut jamais s'en tenir à la réaction d'une cellule isolée, mais prendre la somme des réactions d'un grand nombre de cellules. Les propriétés individuelles se manifestent également dans les modifications chimiques que produisent les cellules dans les liquides nourriciers. On les retrouve aussi dans d'autres directions.

Tout bien examiné, ces phénomènes ne présentent rien de surprenant, ils sont l'image de ceux que nous connaissons déjà chez plusieurs champignons supérieurs.

Comme on sait, les opinions sont encore partagées sur la question de savoir si les levûres hautes et basses des brasseries se composent d'une ou de plusieurs espèces. M. Reess croit fermement qu'elles constituent deux variétés d'un seul et même organisme, le *Sacch. cerevisiæ*, et que ces deux variétés peuvent se transformer l'une dans l'autre; il affirme notamment que la levûre haute de l'ale peut se transformer en levûre basse type après avoir été cultivée quelques jours dans du moût de bière, entre 4° et 6° centig. M. Pasteur, comme nous l'avons fait remarquer dans un de nos mémoires, ne s'est pas nettement prononcé sur la question des saccharomyces, il se borne à discuter ces diverses hypothèses; cependant, il paraît porté à croire que la levûre basse des brasseries peut aisément se transformer en levûre haute, et que cette transformation s'opère dans les brasseries mêmes (*Etude sur la Bière*, pages 213 et 333). D'autres auteurs se sont également occupés de cette question, mais sans arriver à aucun résultat concluant, parce qu'ils n'ont pas expérimenté avec des cultures réellement pures; le plus souvent, on ne sait même pas si les cellules de levûres sur lesquelles ils ont opéré appartenaient au genre saccharomyces.

Depuis le commencement de l'année 1884, j'ai entrepris l'étude méthodique de ces questions. Dans tous les cas, j'ai employé des cultures absolument pures pratiquées dans des ballons Pasteur à deux cols avec du moût stérilisé. Les

levûres basses avec lesquelles j'ai expérimenté sont le *Sacch. pastorianus I,* le *Sacch. ellipsoideus I,* le *Sacch. ellipsoideus II,* les levûres basses n°s 1 et 2 de Carlsberg, et quelques autres levûres basses essayées dans l'exploitation. J'ai opéré à la température ordinaire des appartements, et le moût a été fréquemment renouvelé, de sorte qu'il s'est produit des générations sans nombre de cellules à une température qui provoque généralement la fermentation haute; de plus, ces organismes ont été exposés à divers intervalles à une température plus élevée comprise entre 25 et 30° centig. Pourtant, il ne s'est pas produit de phénomènes de fermentation haute, et ces organismes ont toujours conservé les formes de fermentation basse; pour quelques-unes des espèces ci-dessus mentionnées, ces expériences ont été poursuivies pendant plus de 4 ans.

Depuis la même époque, j'ai également cultivé de la même manière les deux espèces types de fermentation haute, le *Sacch. cerevisiæ* I, et le *Sacch. pastorianus* III, mais à la température de la fermentation basse, soit entre 5° et 7° cent. Tant que les ballons sont restés exposés à cette température peu élevée, la fermentation a été faible, surtout dans le ballon contenant la première espèce; par conséquent, les phénomènes de fermentation haute ne se sont pas manifestés; le contraire a eu lieu aussitôt que la culture a été portée à la température ordinaire des appartements ou à 25° cen.; j'ajoute qu'il en a été toujours de même jusqu'au moment où les ballons ont été examinés pour la dernière fois après une culture ininterrompue de quatre années.

Pour les raisons exposées plus haut, les expériences que nous venons de décrire sont, de toutes celles qui ont été exécutées jusqu'ici, les seules qui aient donné un résultat concluant, et ce résultat est que les espèces de fermentation haute et de fermentation basse ne se transforment pas facilement les unes dans les autres, sous l'influence d'une température déterminée, comme quelques auteurs le croient. Dans mon mémoire précité, sur la formation des voiles dans le genre saccharomyces, j'ai montré, de plus, que les levûres basses ne peuvent pas non plus, sous leur forme de voile, devenir des levûres hautes, ainsi que

M. Pasteur semble le supposer. J'ai en même temps fait voir dans ce mémoire comment des levûres basses peuvent, dans un petit nombre de fermentations, manifester des phénomènes de fermentation haute, après quoi elles reviennent à leur état normal. Nous pouvons donc produire des transformations temporaires, mais non de permanentes. Quant à savoir si on parviendrait à ce dernier but en variant les expériences et en soumettant les cellules à la même influence pendant un temps plus long que dans les expériences mentionnées plus haut, cette question est à examiner; je relate ici des faits observés, et ces faits prouvent en tout cas que de pareilles transformations n'ont pas lieu dans les brasseries. Nous ne pouvons donc nous expliquer les expériences de MM. Reess et Pasteur, qu'en admettant que ces savants ont opéré sur des mélanges de levûre haute et de levûre basse, ce qui pouvait facilement arriver à l'époque de leurs recherches.

La fin de l'édition danoise de ce mémoire renferme une série d'observations sur la manière dont plusieurs levûres basses se comportent dans l'exploitation, et d'après lesquelles on arrive aussi à démontrer que ces levûres présentent des caractères nettement distincts qui se conservent aussi longtemps qu'on cultive ces levûres dans les mêmes conditions.

Les recherches théoriques faites dans le laboratoire, comme celles qui ont été entreprises dans la pratique de l'industrie de la fermentation nous ont, par conséquent, appris qu'il existe plusieurs espèces de saccharomyces, non seulement des levûres dites sauvages, mais des levûres hautes et basses bien caractérisées, en usage dans les brasseries; qu'exposées à diverses influences extérieures ces espèces peuvent varier à un haut degré, mais qu'elles reviennent à leur premier état quand on les cultive pendant longtemps dans les conditions primitives; qu'elles n'ont manifesté que de faibles oscillations, tant qu'elles ont été cultivées dans des conditions analogues à celles où elles se trouvent dans les brasseries. De là, cette conclusion: *dans la pratique, nous pouvons et nous devons considérer ces saccharomyces comme des espèces constantes, et régler sur ce point notre expérimentation.*

NOTE SUR LES

ESSAIS DE STÉRILISATION DU LAIT

dans l'alimentation de l'enfant

PAR

Ed. DE FREUDENREICH

La question de la conservation des aliments a de tout temps préoccupé les hygiénistes. Le lait en particulier, en raison de son importance dans l'alimentation de l'enfant, mérite toute leur attention. Dans la pratique, malheureusement, on se heurte à de nombreuses difficultés lorsque l'on cherche à stériliser le lait, c'est-à-dire à le soustraire d'une façon complète à l'action des microbes qui amènent son altération. On peut, il est vrai, ainsi que M. Pasteur l'a fait, se procurer du lait vierge de bactéries en le recueillant avec des soins antiseptiques rigoureux dans des vases stérilisés; mais ce procédé, applicable aux expériences de laboratoire, pourrait difficilement être employé sur une plus grande échelle. Il ne reste donc qu'à recourir aux deux procédés classiques de stérilisation : la filtration et le chauffage.

De ces deux moyens, le premier ne peut être employé dans le cas qui nous occupe, attendu qu'une filtration assez efficace pour retenir les germes des bactéries retient aussi sur le filtre les 9/10 des matières albuminoïdes du lait, comme l'a démontré M. Duclaux dans ses recherches sur le lait (1), et qu'un tel lait aurait trop perdu de ses qualités nutritives.

Nous en sommes ainsi réduits, comme moyen de stérilisation du lait, au seul chauffage; encore celui-ci ne trouve-t-il qu'une application restreinte. En effet, l'emploi des hautes températures, de 110-115°, qui seules assurent la stérilisation parfaite des liquides, nous est interdit vis-à-vis du lait qui, lorsqu'on le chauffe à 110-115° pendant

---

(1) Duclaux, *Le Lait*, p. 93.

le temps nécessaire pour sa stérilisation, se caramélise par suite de la décomposition du sucre de lait, et prend un goût de brûlé incompatible avec les exigences du consommateur. On comprend donc que ce mode de stérilisation qui, dans un laboratoire, suffit à tous les besoins et a permis à différents expérimentateurs de conserver le lait indéfiniment, ne puisse passer dans la pratique alimentaire. Le chauffage à 100°, du reste, prolongé pendant 2 heures ou plus, est sujet au même inconvénient et n'entraîne pas, en outre, une stérilisation certaine. On sait, en effet, par la récente expérience de M. le professeur Gruber (1), que les spores du *Bacillus subtilis* (et celles-ci sont, ainsi que j'ai pu m'en convaincre, fréquentes dans le lait) résistent à 100° pendant 6 heures. M. Hueppe, dans ses expériences sur le lait, publiées dans le second volume des *Rapports de l'Office impérial Allemand d'Hygiène,* s'est servi, pour stériliser le lait, du chauffage discontinu à 75°, d'après le système de Tyndall. Ce moyen lui a donné de bons résultats et est appliqué journellement dans les laboratoires pour stériliser les liquides ne supportant pas des températures plus élevées; mais ce procédé donne des résultats trop inconstants pour devenir d'un emploi général. Il n'est applicable que là où, comme dans un laboratoire, on peut, avant de se servir des liquides ainsi traités, s'assurer par un contrôle minutieux de leur réelle stérilisation (séjour à l'étuve, expériences de culture). Il serait cependant fort désirable d'arriver à stériliser le lait sans recourir à des températures plus élevées, qui ont l'inconvénient de rendre le lait moins facilement coagulable; aussi ai-je été amené, dans le cours de mes expériences, à essayer le chauffage continu pendant plusieurs jours de suite, sans interruption, à 75°. Je suis arrivé, par ce moyen, à stériliser de l'eau, mais le lait infecté avec des spores du *Bacillus subtilis,* ainsi que des cultures de bacille de la pomme de terre, peuvent séjourner pendant plusieurs jours à cette température sans que les organismes qu'ils contiennent soient le moins du monde atteints dans leur vitalité. En outre, il suffit de

(1) Gruber, *Centralblatt für Bacteriologie,* 1888, p. 576.

48 heures passées à cette température pour que le lait prenne aussi une teinte caramélisée. On connaît d'ailleurs des microbes se cultivant aux environs de 70°, ce qui suffirait pour enlever à un procédé de stérilisation, basé sur l'emploi de la température de 75°, la sécurité que doit présenter un mode de stérilisation destiné à une pratique générale.

On a récemment cherché à tourner ces difficultés en se contentant d'une stérilisation *temporaire* du lait, incomplète il est vrai, mais suffisante pour paralyser pendant quelque temps l'action des germes qu'il contient, et opérée en même temps dans des conditions qui empêchent le lait ainsi stérilisé de s'infecter à nouveau jusqu'au moment de sa consommation. C'est sur ce principe que sont basés les appareils principalement employés dans ce but en Allemagne et en Suisse, ceux des docteurs Sohxlet et Egli-Sinclair. Ayant eu l'occasion de soumettre l'un de ces derniers à un examen bactériologique exact, je pense qu'il ne sera pas sans intérêt d'en publier ici les résultats.

L'appareil du Dr Egli-Sinclair — celui de Sohxlet est à peu près pareil — est très simple : une marmite de fer-blanc munie d'un couvercle, dans laquelle s'emboîte un support en fil de fer étamé pouvant contenir 7 bouteilles d'environ 16 décilitres, dont chacune est destinée à un repas de l'enfant. On les remplit de la quantité voulue de lait, dilué avec de l'eau si l'âge de l'enfant l'exige, et on les place, sans les boucher, avec le support dans la marmite remplie d'eau aux 3/4. On met celle-ci sur le feu et, quand l'eau bout fortement, on bouche les bouteilles hermétiquement avec des bouchons de caoutchouc et l'on ferme le couvercle. Au bout d'une demi-heure, on enlève l'appareil et l'on met les bouteilles dans un endroit frais. Pour les repas de l'enfant on se sert des bouteilles mêmes, dont on remplace alors le bouchon par un biberon. De cette façon, les différentes portions, suffisant pour 24 heures, restent absolument à l'abri des impuretés atmosphériques jusqu'au moment de leur emploi.

L'analyse bactériologique du lait ainsi chauffé a porté sur le liquide à sa sortie de l'appareil, ainsi que sur du lait ayant séjourné ensuite pendant un temps variable à la

température de la chambre ou à celle de l'étuve (37°). Je me suis servi, pour ces expériences, du procédé de l'ensemencement fractionné, tel qu'il est pratiqué pour les analyses d'eau par M. le Dr Miquel au laboratoire de Micrographie de l'observatoire de Montsouris. Le lait était donc ensemencé, après avoir préalablement fortement agité la bouteille, par gouttes et fractions de goutte dans des vases de bouillons, de façon à ce que l'on pût, s'il se présentait des cas d'altérations, calculer, d'après le nombre des vases altérés, le chiffre des microbes contenus dans le nombre des gouttes distribuées. En général, le lait, puisé avec des pipettes stérilisées, était ensemencé à la dose d'une goutte dans 6 à 10 flacons, à la dose de 1/10 de goutte dans 32 flacons, de 1/50 dans 32 flacons, et de 1/100 également dans 32 flacons de bouillon. Dans les cas où je pouvais présumer une altération du lait (séjour à l'étuve), j'employais, en outre, des dilutions plus fortes, à 1/1 000, 1/10 000 et 1/200 000.

Prélevé à sa sortie de l'appareil, le lait n'altéra aucun des ballons ensemencés. Il est bon toutefois de remarquer qu'ensemencé à la dose d'une goutte, le lait donne une apparence trouble au bouillon, simulant à s'y méprendre une invasion microbienne, mais l'examen microscopique et les essais de culture montrent vite que ce trouble est dû aux globules gras du lait. Tenu à la température de la chambre, à environ 15°, pendant 4 heures, le même lait, ensemencé de la même façon, se montra également incapable de féconder un seul des nombreux ballons mis en expérience. Il en fut de même avec les bouteilles de lait tenues en chambre pendant 20 et 45 heures. Même au bout de ce temps, le lait n'infesta pas un seul ballon de bouillon. Du lait mélangé, avant la cuisson, à parties égales avec de l'eau, pour que les résultats de l'expérience fussent pareillement applicables aux dilutions que l'on est obligé d'employer pour les nourrissons, se montra tout aussi pauvre en germes. Ainsi donc, dans ces expériences répétées à des jours différents, le lait stérilisé d'après la méthode Egli-Sinclair n'a pas pu, distribué à la dose totale de plusieurs centimètres cubes, altérer les bouillons de culture. Il est cependant

loin d'être stérile. Il suffit de le tenir pendant 24 heures à l'étuve, expérience que j'ai faite deux fois, pour le voir se peupler de façon à ce que même 1/200 000 de goutte suffise pour infecter constamment le bouillon, ce qui donnerait à ce moment un minimum de 4.000.000 de bactéries par centimètre cube. On ne trouve toutefois dans ce lait altéré que des bacilles du genre du *Bacillus subtilis*. Le *Bacterium acidi lactici* en particulier, celui qui serait le plus à craindre pour la digestion de l'enfant, a complètement disparu.

Il résulte donc des expériences qui précèdent que le lait chauffé d'après le système Egli-Sinclair ne contient, après cette opération, qu'un nombre restreint de germes de bacilles incapables de donner naissance, en moins de 2 jours, à une végétation bactérienne à la température de 15°. On peut donc en toute sécurité se servir, pour l'alimentation de l'enfant, de ce lait ainsi stérilisé partiellement, à condition de le préparer tous les jours et de le tenir au frais dans les intervalles des repas.

SUR LA NATURE
DE CERTAINES SUBSTANCES DE RÉSERVE
contenues dans le protoplasma des Infusoires (1)

PAR

FABRE-DOMERGUE, Docteur ès-sciences

Indépendamment des bols alimentaires et des granulations réfringentes contenues dans sa masse, le plasma des Infusoires renferme encore certaines substances d'aspect variable, affectant le plus souvent une forme sphérique, et que tous les auteurs qui les ont étudiées s'accordent à considérer comme des grains de réserve, nom sous lequel on les désigne généralement aujourd'hui.

Ces grains de réserve ont été signalés et figurés par les anciens observateurs, mais ils ont été surtout étudiés, au point de vue de leur formation, de leurs propriétés chimiques et de leur rôle, par Maupas (2) chez le *Coleps hirtus*, par Khawkine (3) chez l'*Astasia ocellata*. Nous-même avons, dans un travail précédent (4), signalé leur apparition soudaine chez un *Glaucoma,* à la suite de certaines conditions favorables d'existence.

Chez tous ces êtres, ils se présentent comme des corps arrondis, incolores, légèrement réfringents. Le nom même qui leur a été imposé prouve que les auteurs les considèrent comme des corps secrétés, analogues aux grains d'amidon, et susceptibles d'être, à un moment donné, résorbés par l'individu qui les contient. Il se peut, en effet,

---

(1) Ce travail a été fait dans les laboratoires de MM. les professeurs Milne-Edwards et Balbiani.

(2) Sur le *Coleps hirtus* (Ehrbg). *(Archives zool. exp.*, t. III, 1885, p. 337-67, pl. 18).

(3) Recherches biologiques sur l'*Astasia ocellata* et l'*Euglena viridis*. (*Ann. Sc. Nat.*, 1885).

(4) Rech. anat. et physiol. sur les *Inf. ciliés*. *(Ann. Sc. Nat.*, 1888, p. 132).

que, dans certains cas, il en soit ainsi, et que la matière de réserve se dépose dans le plasma sous une forme solide et concrète; mais, chez quelques-unes des espèces que j'ai étudiées à ce point de vue, les choses se passent tout à fait autrement, et c'est le résultat de mes recherches sur ce sujet que je vais brièvement exposer ici.

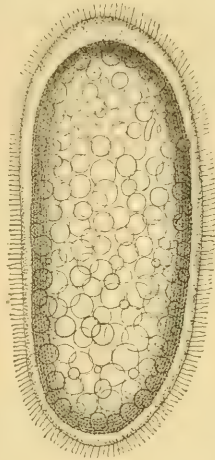


Fig. 1. Ophryoglena flava Ehr. chargée de substances de réserve.

Il existe de nombreuses espèces de Ciliés d'eau douce que l'on rencontre presque toujours dans un état de réplétion complète et dont le corps, examiné à la lumière transmise, paraît absolument opaque. L'*Ophryoglena flava (fig. 1)*, plusieurs *Prorodons (fig. 2 et 3)*, présentent toujours cet aspect au moment de leur capture. Or, en les comprimant légèrement de façon à les rendre un peu transparents, on s'aperçoit que cette opacité est due, non à des bols alimentaires, mais à la présence dans l'endoplasme d'un grand nombre de sphères transparentes, peu réfringentes, séparées les unes des autres par de minces couches de plasma granuleux et incolore.

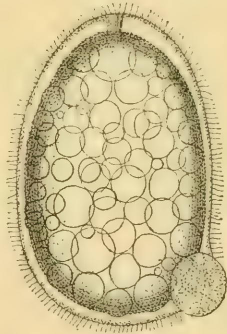


Fig. 2. Prorodon indéterminé trouvé dans les bassins de pisciculture du Collège de France. Les sphères paraplasmiques sont très grosses et d'une teinte pâle. L'une d'elle est expulsée par une ouverture provoquée par la compression à laquelle est soumis l'individu.

Ehrenberg avait, du reste, parfaitement reconnu la constitution de ces corps, et les a figurés d'une façon assez satisfaisante chez l'*Ophryoglena flava (Bursaria)* (1).

Ces sphères sont tantôt uniformément colorées en jaune pâle, tantôt fortement teintées de brun rouge, de jaune rouge ou même de rose. Bien que très fortement pressées les unes contre les autres, elles ne prennent jamais la

(1) Ehrenberg, *Die Infusionsthiere*, t. XXXV, fig. II, 1, 2, 3, s. 330.

forme polygonale par pression, mais demeurent toujours parfaitement sphériques. L'endoplasme seul contient des sphérules colorées, l'ectoplasme demeure parfaitement incolore, formant autour du corps de l'individu une ligne claire plus épaisse aux deux pôles.

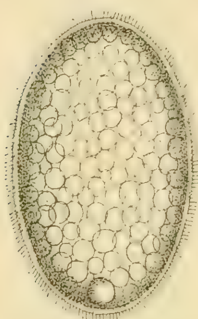


Fig. 3. *Prorodon* indéterminé trouvé dans les eaux du Muséum et contenant de petites sphères paraplasmiques.

Les individus ainsi chargés de ces sphères colorées ne contiennent jamais de bols alimentaires, leur plasma est parfaitement homogène, c'est-à-dire uniquement formé de sphères et de substance granuleuse.

Lorsque l'on recueille ces individus colorés et qu'on les place dans une chambre humide sur une lame, on les voit peu à peu se décolorer et devenir parfaitement transparents *(fig. 4)*. Les sphères pâlissent peu à peu et finalement disparaissent complètement, de sorte qu'à ce moment l'Infusoire présente exactement l'aspect et la constitution que nous sommes habitués à rencontrer chez ces êtres. Ce qui frappe surtout, quand on observe ce phénomène, c'est que la disparition rapide d'une aussi grande quantité de matière, matière qui constitue presque les deux tiers du volume total du corps, n'entraîne point la réduction proportionnelle à laquelle on pourrait s'attendre. L'Infusoire ne diminue pour ainsi dire pas de taille.

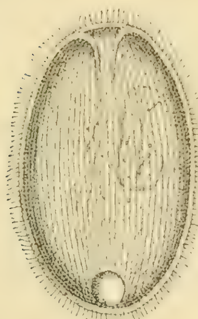


Fig. 4. Le même individu séquestré pendant deux jours en chambre humide. Il laisse voir son pharynx entouré d'une couche octoplasmique et auquel fait suite une traînée sinueuse se dirigeant vers l'anus. A droite se voit le noyau.

Il arrive souvent que, sous l'influence de la compression ou d'une toute autre excitation, l'individu laisse échapper par l'anus, ou par toute autre ouverture accidentellement formée *(fig. 2)*, des sphérules colorées qui flottent dans le liquide et disparaissent brusquement.

Lorsqu'on approche d'un Infusoire vivant et bien chargé de sphères colorées, une baguette mouillée d'ammoniaque, il difflue brusquement et *totalement;* les sphères colorées disparaissent également. Si, au contraire, on l'écrase entre la lame et la lamelle, de façon à entraîner la rupture de l'ectoplasme, les sphères sortent du corps, flottent en petits groupes *(fig. 5)*, et, à un moment donné, diffluent brusquement, laissant à leur place quelques granulations.



Fig. 5. Sphères paraplasmiques isolées et flottant dans l'eau.

La réfringence des sphères, considérée par rapport à celle de l'eau, est faible et se rapproche beaucoup de celle du paraplasma exprimé par pression du corps d'un Cilié, d'une Paramœcie par exemple.



Fig. 6. Les mêmes, fixées par l'acide osmique et traitées par la potasse.

Traitées par les réactifs, elles présentent les phénomènes suivants :

L'acide acétique ne les dissout pas, mais les rend granuleuses avec quelques granulations plus fortes et très réfringentes *(fig. 7)*.

La potasse les dissout rapidement et les décolore.

L'acide osmique les brunit légèrement, mais sans les noircir. Si, après l'acide, on lave et on traite par la potasse, les sphères se décolorent; quelques-unes présentent au centre une sorte de condensation de la matière colorante, qui disparaît rapidement *(fig. 6)*, laissant à sa place une cavité analogue à celle décrite par Maupas dans les grains de réserve du *Coleps hirtus*.



Fig. 7. Montrant quatre sphères paraplasmiques traitées par l'acide acétique, et une, l'inférieure, traitée par l'iode.

Traitées par l'iode, les sphères prennent la coloration jaune paille sans trace de matière glycogénique. Certaines d'entre elles présentent des amas de granulations noirâtres ou d'un rouge foncé *(fig. 7)*.

Quelle est la nature de ces sphères colorées ? Tout d'abord, le fait le plus saillant est la manière dont elles se comportent au moment de la diffluence totale par l'ammoniaque, ou de la diffluence spontanée des sphères expulsées par compression. En étudiant le paraplasma des

Ciliés, nous avons rencontré le même phénomène; nous avons démontré en même temps qu'il était soluble à l'état frais dans la potasse, qu'il devenait beaucoup moins soluble dans ce réactif après l'action de l'acide osmique. Les sphères présentent les mêmes réactions et peuvent être considérées, je crois, comme du paraplasma chargé d'une matière liquide, colorée, susceptible d'être résorbée par le paraplasma lui-même. Cette manière de voir est encore confirmée par la façon dont se comportent les sphères au moment de leur disparition par résorption. Ce ne sont point des granules qui disparaissent peu à peu en diminuant de volume; on les voit pâlir progressivement, leurs contours deviennent de moins en moins nets, leur volume restant le même, et peu à peu le plasma de l'Infusoire recouvre son homogénéité normale.

Si l'on prend un de ces Infusoires ayant perdu ses sphères, qu'on le tue par l'acide osmique, et qu'on l'examine alors après un traitement convenable, sa constitution paraît tout autre. Le paraplasma ne forme point des sphérules isolées entourées de minces couches de hyaloplasma; il apparaît alors nettement, contenu dans le reticulum hyaloplasmique, et je serais tenté d'admettre que le paraplasma chargé de matière colorante liquide, s'isolant du hyaloplasma, forme dans sa masse des sphérules, un peu à la manière des bols alimentaires, qui, comme chacun sait, se présentent toujours ainsi chez les Ciliés.

Cette curieuse modification du paraplasma m'amène naturellement à parler de la structure normale des Infusoires et à répondre à une note de M. Künstler (1), parue dans les Comptes rendus des séances de la Société Zoologique de France. M. Künstler m'a fait l'honneur d'y exposer qu'il n'avait point du tout la même opinion que moi sur le protoplasma des Ciliés. Je remercie le savant professeur d'avoir pris soin d'établir ce fait, et me permettrai seulement de rectifier une légère erreur qu'il m'y attribue à tort. Selon lui, je ferais circuler les bols alimentaires dans les mailles du hyaloplasma. Or, si l'on veut

(1) *Structures vacuolaire et aréolaire.* (*Bull. Soc. Zool. de France*, t. XIII, n° 7, 1888).

bien se reporter à la page 62 de mon travail (2), où j'étudie le mécanisme de la cyclose, l'on verra que j'explique le phénomène par la contractilité propre du hyaloplasma qui contient et qui entoure les bols alimentaires.

Quant à ce qui concerne la structure vacuolaire que M. Künstler a découverte chez le *Chilomonas paramœcium* en même temps qu'un certain nombre de faits fortement contestés, je ne nie point qu'elle ne puisse exister et que M. Künstler ne l'ait vue le premier; ce que je conteste au savant professeur de Bordeaux, c'est la prétention d'étendre sa découverte à tous les Protozoaires, et surtout de la faire remonter à son premier travail, dans lequel sa théorie sphérulaire s'écarte absolument de celle qu'il soutient aujourd'hui.

Ce que je viens de décrire chez les Ciliés semble correspondre assez exactement à la structure vacuolaire actuellement admise par M. Künstler, et je pense que, dans certains cas, le protoplasma peut présenter cette constitution due, comme je le disais plus haut, à l'isolement du paraplasma modifié dans sa constitution par le dépôt, dans sa masse, de substances liquides étrangères. D'autre part, j'ai pu nettement observer une réticulation du même protoplasma après disparition des sphérules, et, sans aller jusqu'à conclure que partout et toujours ces différences tiennent à la même cause, je conclus que, dans certains cas, le protoplasma peut présenter les deux aspects à différentes phases de sa vie. J'ai observé la même chose chez un être précisément découvert par M. Künstler, le *Dumontia opheliarum*. Chez les grands individus, le protoplasma est nettement réticulé, et c'est même un des plus beaux reticulums que j'ai vus. Les petits individus, au contraire, paraissent présenter une structure vacuolaire et non aréolaire.

Cette propriété du paraplasma de se charger de matières colorantes liquides existe, comme nous l'avons dit, chez certaines Ophryoglènes et chez un grand nombre de Prorodons. Certaines espèces, qui se montrent ordinairement à l'état de vacuité, peuvent, dans des circonstances don-

---

(2) *Loc. cit.*

nées, revêtir cet aspect. Ainsi, le *Prorodon niveus,* que j'ai étudié dans un travail antérieur, et que je n'avais jamais rencontré avec des sphères de réserve, m'en a montré abondamment dans une culture d'eau du Muséum où se trouvaient aussi des Ophryoglènes. Cette sécrétion de matière de réserve est due évidemment à une surabondance d'alimentation, et très probablement à une oxygénation parfaite du milieu, car, comme je m'en suis maintes fois assuré, il suffit de tenir les Infusoires dans une atmosphère confinée et sans nourriture aucune, pour voir disparaître rapidement leurs sphères de réserve.

Il est intéressant de comparer cette constitution temporaire du plasma des Infusoires à celle de certains corps cellulaires, des œufs en particulier et peut-être aussi des cellules glandulaires.

Quand on étudie les globules huileux contenus dans l'œuf des poissons, on est frappé de la ressemblance qu'ils présentent avec les sphères de réserve, et il se pourrait également que le mécanisme de la sécrétion de certaines glandes soit dû au départ de corps liquides susceptibles d'être exprimés au dehors avec le paraplasma qui les contient.

REVUES ET ANALYSES

E. Nocard. — **Sur la maladie des Bœufs de la Guadeloupe, connue sous le nom de farcin.** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, page 293).

Le *farcin du Bœuf,* maladie chronique autrefois très répandue dans nos contrées, paraît être devenu aujourd'hui très rare, et on ne le rencontre pour ainsi dire plus que dans la Bresse et dans le Nord de la France. Mais il exerce ses ravages sur les bovinés de la Guadeloupe, où, d'après M. Couzin, qui l'a étudié avec beaucoup de soin, il serait très fréquent et très meurtrier. Cette maladie, à laquelle on a donné le nom de farcin, à cause de sa ressemblance extérieure avec le farcin des équidés, est caractérisée par une inflammation suppurative des vaisseaux et des ganglions lymphatiques superficiels, se traduisant par l'apparition de tumeurs, de cordes localisées ordinairement sous le ventre et sur les membres. A l'autopsie, outre les collections purulentes des ganglions des membres et du tronc, on constate des pseudo-tubercules dans les poumons, le foie et la rate, généralement sous forme de granulite.

Le farcin du bœuf n'a rien de commun avec le farcin morveux des équidés, et, du reste, on sait que les bovinés sont absolument réfractaires à l'inoculation morveuse; mais, comme la morve, cette affection est due à la présence d'un parasite pathogène, différant essentiellement du bacille de la morve, tant par ses caractères morphologiques que par ses propriétés.

Encore un bacille nouveau, diront les anti-microbiologistes? Oui, encore un bacille dont nous devons la constatation au savant bactériologiste de l'École vétérinaire d'Alfort, M. Nocard; encore une affection qui, grâce à cette découverte, peut être définitivement classée dans le cadre nosologique des maladies parasitaires.

« Ce microbe est un fin et long bacille se présentant sous forme de petits amas, enchevêtrés d'une façon inextricable, la partie centrale figurant un noyau opaque, d'où rayonnent à la péri-

phérie une myriade de fins prolongements, dont la plupart semblent ramifiés; on dirait une tête de choux-fleurs, un fagot épineux ou encore une semence de bardane. Sous le rapport de ses dimensions, ce bacille peut être comparé à celui du rouget du porc. »

Ce microbe en broussailles, qu'on trouve en quantité considérable dans le pus et dans les nodules tuberculiformes des poumons, du foie et de la rate, est très apparent quand on emploie le procédé de Gram avec décoloration par l'huile d'aniline, la méthode de Gram avec décoloration par l'alcool ne donnant que des résultats imparfaits. Traité par la méthode d'Ehrlich, il se décolore, ce qui écarte toute hypothèse d'une lésion tuberculeuse.

Cet organisme, exclusivement aérobie, se cultive très bien dans les divers milieux nutritifs à une température de 30 à 40°.

Sur la gélose, sur le sérum gélatinisé, il se développe sous forme de petits amàs irréguliers, saillants, d'un blanc jaunâtre, d'aspect lichénoïde, qui, plus tard, se réunissent et constituent une espèce de membrane plissée.

Sur la pomme de terre, les cultures revêtent la forme de petites plaques écailleuses d'un jaune-pâle, très saillantes et très sèches.

Dans les bouillons additionnés de glycérine et de peptone ces micro-organismes se développent sous forme d'amas blanchâtres, dont la plupart se déposent au fond. Quelques-uns viennent cependant flotter à la surface, et on dirait « des feuilles de nénuphar s'étalant à la surface d'un étang, ou mieux encore du bouillon gras dont les yeux se seraient figés par refroidissement. »

Au microscope, on constate, dans toutes les cultures, le même amas filamenteux en forme de broussailles dont nous avons parlé.

Les cultures se conservent pendant longtemps, car M. Nocard les a vues se reproduire avec la même vigueur après 4 mois de séjour à l'étuve à 40°. Chauffées à 65°, pendant 15 minutes, elles conservent leur virulence, qui n'est détruite qu'à la température de 70°.

Quant à l'action pathogène de ce microbe, elle varie suivant l'espèce animale inoculée, et suivant le procédé d'inoculation employé.

On peut citer, par ordre de réceptivité, le cobaye, puis le bœuf et le mouton. Le lapin, le chien, le chat, le cheval et l'âne sont réfractaires.

Les injections intra-péritonéales et intra-veineuses du pus ou du liquide de culture, chez le cobaye, la vache et le mouton, provoquent des lésions qui simulent à s'y méprendre celles de la tubercu-

lose miliaire. On constate, à l'autopsie, la présence de nombreuses granulations miliaires sur les viscères, notamment sur les poumons, le foie, la rate, au centre desquelles on retrouve toujours les touffes de bacilles caractéristiques. Mais, chez ces espèces animales, il y a de grandes différences dans le mode d'action et dans l'intensité du virus. Tandis que les cobayes meurent dans un délai variable de 9 à 20 jours, les vaches et les moutons résistent si longtemps à l'action nocive de ce microbe pathogène, qu'on est en droit de se demander si la mort peut en être la conséquence.

Les injections hypodermiques ont des résultats beaucoup moins rapides, même chez les cobayes, où les lésions provoquées par cette inoculation marchent avec lenteur. En général, ces lésions sont limitées à la formation d'abcès au point d'inoculation, abcès renfermant en quantité les microbes spécifiques. Mais ils sont caractérisés par leur persistance ; s'ils disparaissent, c'est pour réapparaître plusieurs semaines, plusieurs mois après, et à peu près dans la même région.

« En résumé, dit M. Nocard, le bacille du farcin du bœuf, injecté dans les veines ou dans le péritoine, tue le cobaye en quelques jours ; au contraire, inoculé sous la peau du même animal, il reste pendant de longs mois confiné dans les vaisseaux ou les ganglions lymphatiques du voisinage, sans modifier l'état général du sujet, sans ralentir son engraissement. »

L. M.

V. Galtier. — **Sur un microbe pathogène chromo-aromatique.** (*Journal de Médecine vétérinaire et de Zootechnie,* t. XXXIX, juin 1888).

M. Galtier, professeur à l'Ecole vétérinaire de Lyon, communique une courte note au sujet d'un bacille spécial, par lui trouvé, dans le système ganglionnaire d'un porc présentant des lésions très accusées dans les voies respiratoires et digestives.

Ce bacille, pathogène pour les lapins et les cobayes, se reproduit constamment dans les divers milieux de culture, ensemencés avec le sang ou d'autres produits des animaux ayant succombé à l'injection intra-veineuse. Mais ce qui caractérise ce microbe nouveau, c'est la propriété qu'il possède de sécréter une substance colorante et aromatique.

Dans le bouillon, ces microbes forment des amas blanchâtres, en même temps qu'on voit apparaître dans le liquide une teinte d'un vert jaune clair qui devient de plus en plus foncée, pour s'affaiblir ensuite et passer définitivement à la teinte brune ardoisée

et feuille morte. On observe cette même coloration sur l'agar-agar, la lati ne (qui est rapidement liquéfiée) et la pomme de terre. Les cultures, surtout celles faites dans le bouillon, dégagent une odeur aromatique, très prononcée, agréable et persistante.

L. M.

Nocard et Roux. — **Expériences sur la Vaccination des ruminants contre la rage, par injections intra-veineuses de virus rabique.** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, p. 341).

M. Galtier, dans un mémoire qu'il adressait à l'Académie des sciences, 1er août 1881, posait les conclusions suivantes :

« Les injections de virus rabique dans les veines du mouton ne font pas apparaître la rage et semblent conférer l'immunité. »

Tout en reconnaissant la valeur des expériences du savant professeur de l'Ecole vétérinaire de Lyon, il faut reconnaître qu'elles sont entachées d'une certaine incertitude qu'il importait de faire disparaître. Ainsi, M. Galtier se servait pour ses inoculations d'un virus rabique, la bave, dont les effets sont inconstants, et qui contient un grand nombre de microbes étrangers dont le développement peut arrêter celui du virus rabique.

Vers 1884, MM. Nocard et Roux reprirent dans d'autres conditions les expériences de M. Galtier, en se servant d'un virus pur à effets constants, la matière du bulbe d'un chien enragé, et les résultats qu'ils ont obtenus confirment pleinement ceux signalés par M. Galtier.

MM. Nocard et Roux divisent leur travail en trois parties, que nous allons analyser successivement.

1° L'injection de moelle rabique dans les veines des moutons et des chèvres ne leur donne pas la rage et leur confère l'immunité.

Pour confirmer la première partie de cette assertion, MM. Nocard et Roux inoculent par injections intra-veineuses à 21 moutons, 4 chèvres, une émulsion, soit de bulbe de chien enragé, soit de moelle de lapin de passage, dont la virulence est beaucoup plus active sur le chien et le lapin. Ces 25 animaux restèrent indemnes, tandis que les témoins (moutons, lapins, chiens, cobayes) inoculés, soit par trépanation, soit par injection du même virus dans la chambre antérieure de l'œil, succombèrent à la rage dans un délai très court.

Ces expériences démontrent que l'injection intra-veineuse de virus rabique le plus virulent ne donne pas la rage aux moutons et aux chèvres; restait à savoir si elle leur conférait l'immunité.

Dans ce but on inocula dans la chambre antérieure de l'œil une émulsion de virus très virulent, provenant d'un bulbe de chien atteint de rage furieuse, à 11 des animaux soumis auparavant à l'injection intra-veineuse ; un seul succomba à la rage, et les autres sont encore bien portants. Tous les témoins inoculés dans les mêmes conditions succombèrent sans exception.

Les injections intra-veineuses, non-seulement ne donnent pas la rage aux moutons, mais elles leur confèrent encore l'immunité, et une immunité persistante qui peut encore exister 9 mois après la vaccination.

Mais, bien qu'on puisse injecter dans les veines des moutons des quantités considérables de moelle rabique, il est une proportion qu'il ne faut cependant pas dépasser, sous peine de voir ces animaux succomber à la rage.

Il en est de même si dans les inoculations d'épreuve on se sert d'un virus très virulent, tel que le virus de lapin de passage ; dans ce cas, l'immunité conférée par les injections intra-veineuses n'est pas aussi constante, mais elle pourrait l'être si l'inoculation d'épreuve était faite sous la peau au lieu d'être pratiquée dans l'œil.

2°. *Vaccination des bêtes bovines contre la rage.*

Les quelques essais tentés dans ce sens n'ont pas donné les résultats qu'on était en droit d'en attendre. Mais, ainsi que le disent les expérimentateurs, les résultats obtenus, si minimes qu'ils soient, encouragent à recommencer et à persévérer dans cette voie.

3°. *Vaccination des moutons après infection.*

Tout autres sont les résultats obtenus pour préserver les moutons de la rage, soit après morsure, soit après inoculation dans l'œil de virus rabique, procédé qui leur donne la rage presque à coup sûr.

Deux centimètres cubes d'émulsion rabique en injections intra-veineuses suffisent pour prévenir la rage après inoculation dans l'œil, si ces injections sont faites en temps opportun. En effet, les animaux inoculés, traités 48 à 72 heures après, ont tous succombé, tandis que ceux traités 24 heures après l'inoculation ont survécu. Mais, ainsi que le disent très bien MM. Nocard et Roux, comme il est plus facile de préserver le développement de la rage après inoculation sous-cutanée qu'après inoculation intra-oculaire, les vétérinaires auront donc tout le temps nécessaire pour se procurer le virus et tenter les inoculations préservatrices sur des moutons mordus par un chien enragé.

D'après tout ce qui précède, MM. Nocard et Roux ont formulé les conclusions suivantes :

« 1° L'injection intra-veineuse de moelle rabique ne donne pas la rage aux petits ruminants et leur confère l'immunité, ainsi que l'a annoncé M. Galtier ; »

« 2° Cette méthode peut prévenir la rage, même après l'inoculation dans l'œil et par conséquent après morsure. Elle est d'un emploi facile, puisqu'elle réussit bien avec de la moelle rabique des lapins de passage, et enfin elle mérite d'être essayée sur une grande échelle. »

L. M.

Dr Jorge Sternberg. — **Les Microbes de la Fièvre jaune** (Trabajo publicado en la « *Cronica Medico-Quirurgica* » de la Habana, 1888); — et, du même auteur, **Recherches sur l'étiologie et la prophylaxie de la Fièvre jaune** (*Medical News*, April 28, 1888).

L'auteur, chargé par le Gouvernement d'étudier la nature infectieuse de la fièvre jaune, ainsi que la méthode prophylactique préconisée au Brésil par le Dr Domingos Freire, et à Mexico par le Dr Carmona y Valle, rend compte du résultat de sa mission.

Il importait d'établir d'abord la présence du Microbe dans l'organisme des sujets atteints de la maladie, et ensuite de s'assurer de la réalité prophylactique des inoculations. D'après le Dr Freire les microbes existent dans la plupart des organes, et même dans le liquide céphalo-rachidien des sujets morts de la fièvre jaune; il nomme ces microbes : *Cryptococcus xanthogenicus*. Or, le Dr Sternberg, après s'être livré à de nombreux examens de liquides et de tissus préparés selon les règles de la technique bactériologique, s'est assuré de l'absence complète d'organismes. Dans deux cas seulement il a retrouvé, sur des matériaux fournis par le Dr Lacerda, de Rio de Janeiro, de courts bacilles qui avaient été décrits par Babes, d'après des matériaux de même provenance.

Le Dr Sternberg conclut que les cryptococcus de Freire ne sont que des granulations résultant de la décomposition du protoplasma.

En ce qui concerne la réalité de la prophylaxie, l'auteur discute pied à pied les statistiques du Dr Freire, car, dit-il avec raison, il ne suffit pas de démontrer l'absence des microbes pour établir l'immunité d'une méthode prophylactique par inoculation. D'après lui les statistiques seraient faussées par l'introduction de plusieurs facteurs, notamment par l'inoculation d'individus acclimatés, et par conséquent indemnes de la maladie, et de voyageurs dont on n'a pu dans la suite contrôler l'état de santé.

F. D.

Dr Tavel. — **Deux cas de Gastro-entérite à la suite de l'ingestion d'un jambon.** (*Correspondenzblatt für Schweiz.* Aerzte, XVII, n° 14, 1887).

Appelé à faire l'examen bactériologique d'un jambon, dont l'ingestion avait provoqué chez les époux X*** une gastro-entérite d'une gravité telle qu'elle entraîna la mort de la femme, le Dr Tavel réussit à en isoler, par des cultures sur plaques, un certain nombre de colonies présentant tous les caractères du bacille charbonneux. Inoculés à des souris, ces bacilles leur communiquèrent un charbon typique (tuméfaction de la rate, bacilles charbonneux dans le sang de la rate et des poumons). L'évolution de la maladie fut seulement plus lente que d'habitude; ainsi, tandis que quelques-uns des animaux d'expérience mouraient en 2 à 3 jours, les autres ne succombaient qu'au bout de 4, 12, 14 et même 32 jours. Il y a là une atténuation manifeste du virus, car, inoculés à des cobayes, des parcelles de la rate des souris mortes du charbon restaient sans effet. A quoi est due cette atténuation? Le Dr Tavel incline à l'attribuer à l'action du fumage auquel le jambon en question avait été exposé (il s'agissait en effet d'un jambon fumé). A l'appui de cette opinion, il cite le fait que les colonies provenant de l'intérieur du jambon, et qui, par conséquent, étaient moins accessibles à l'action de la fumée, se sont montrées plus virulentes que celles de la surface; elles tuaient, effectivement, toutes les souris, tandis qu'une partie des souris inoculées avec ces dernières restèrent en vie. Cette hypothèse trouve un certain appui dans les expériences de Peuch, sur les effets de la salaison sur la virulence de la viande de porc charbonneux *(Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. CV, 1887, n° 5, p. 285). Peut-être aussi pourrait-on attribuer cette atténuation au passage de la bactéridie charbonneuse par l'organisme du porc, de même que le bacille du rouget du porc s'atténue en passant par l'organisme du lapin et le virus rabique en passant par le singe. Cette hypothèse est toutefois rendue peu probable par les expériences suivantes que M. le professeur Guillebeau a bien voulu nous communiquer. Deux porcs inoculés dans la cuisse, avec un virus charbonneux virulent, restèrent en vie, mais des parcelles de tissu prélevées plusieurs jours après dans le voisinage de l'endroit où l'injection avait été faite, et ensemencées dans des plaques de gélatine, donnèrent de nombreuses colonies de *Bacillus anthracis*, dont la virulence n'avait subi aucune altération comme on put s'en convaincre par des inoculations.

Quelle que soit la cause de cette atténuation, il n'en reste pas



moins démontré, par les expériences du Dr Tavel, qu'il s'agissait bien d'une affection charbonneuse transmise par le porc. Le cas est rare, il est vrai, chez cette espèce animale ; mais, depuis les faits cités par Roman, Friedberger, Frœhner et Cornevin, le doute n'est plus permis. On pourrait peut-être s'étonner aussi de ce qu'un charbon, atténué comme celui-ci, ait produit de tels ravages dans l'organisme humain, plus résistant à cette maladie que les cobayes. Mais il ne faut pas oublier qu'il s'agit ici d'une infection par la voie stomacale, la plus dangereuse de toutes pour certaines espèces animales, puisque l'on voit des moutons devenus, par la vaccination, réfractaires à une inoculation sous-cutanée, succomber quand on leur fait ingérer des spores de la bactéridie charbonneuse.

E. F.

Dr Smirnow. — **Sur la nature de l'atténuation des bactéries pathogènes.** (*Zeitschrift für Hygiene*, t. IV, 2, p. 231).

Le second fascicule du quatrième volume de la *Revue d'hygiène*, dirigée par MM. Koch et Flügge, paru en juillet dernier, contient sur la question de l'immunité une série d'importants travaux entrepris dans le laboratoire de M. le professeur Flügge, et exécutés sous sa direction par quelques-uns de ses élèves: MM. les docteurs Smirnow, Sirotinin, Bitter et Nuttal. Dans une introduction à cet ensemble de mémoires, M. le professeur Flügge expose excellemment l'état actuel de la question envisagée à la lumière que les expériences faites dans son laboratoire jettent sur elle. Nous commencerons donc par rendre compte de ces dernières, nous réservant de suivre le savant professeur de Breslau dans son exposé, après en avoir mis les éléments sous les yeux de nos lecteurs.

Dans son mémoire, M. le Dr Smirnow recherche en quoi consiste l'atténuation des bactéries pathogènes. Cette question a jusqu'ici été un peu négligée, et les expérimentateurs se sont bornés à émettre diverses hypothèses au sujet de l'agent producteur de l'atténuation. Ainsi, selon M. Pasteur, c'est à l'action prolongée de l'oxygène que reviendrait le rôle principal dans l'atténuation. D'après MM. Chauveau et Koch, c'est à l'action de la chaleur que nous serions redevables de l'atténuation des virus ; d'autres savants, enfin, ont trouvé que des agents chimiques pouvaient produire ce résultat, et M. Pasteur a même constaté l'atténuation de la virulence par le passage du microbe dans un organisme vivant (atténuation du bacille du rouget par son passage dans le lapin). Or, si l'on considère les différents moyens auxquels on a eu recours pour produire l'atténuation,

on voit, dit M. Smirnow, qu'ils ont ceci de commun, c'est que, employés d'une façon modérée, ils atténuent les bactéries et qu'ils les tuent quand on force leur emploi. Il n'est donc pas douteux qu'en produisant l'atténuation ces agents n'amènent une dégénérescence des bactéries pathogènes. Mais dans quelle mesure cette action nuisible se fait-elle sentir? En détruisant la virulence seulement, comme on semble l'admettre généralement, ou en diminuant d'une façon générale la vitalité de la bactérie pathogène? Dans ce cas, les bactéries atténuées devraient aussi croître moins bien en dehors de l'organisme que les bactéries virulentes et se montrer moins résistantes à l'influence nuisible de divers agents. Ce sont ces deux points, assez négligés jusqu'ici, que M. le D[r] Smirnow s'est proposé d'élucider en prenant pour objet d'étude les bactéries atténuées du charbon, du rouget du porc et du choléra des poules.

Il fallait, avant tout, se procurer des cultures atténuées. Pour le charbon, l'auteur s'arrêta à la méthode de M. Pasteur, dont il put constater les effets constants et certains (chauffage à 42°,4). Il réussit ainsi à fixer 3 degrés de virulence. Les cultures chauffées entre 42 et 43°, pendant 16 à 18 jours, ne tuaient plus les lapins et les souris qu'en 60 heures seulement. Celles qui avaient été chauffées pendant 30 jours ne tuaient plus les souris qu'en 3 à 4 jours. Les cultures, enfin, chauffées pendant 35 jours, avaient perdu toute virulence. Ces cultures, ensemencées régulièrement dans de nouveaux ballons, gardèrent constamment leur degré propre de virulence.

En vue d'atténuer les bacilles du rouget, M. le D[r] Smirnow eut également recours au procédé de M. Pasteur : le passage par l'organisme du lapin. Il n'eut toutefois aucun succès, car les lapins qu'il inocula ne moururent pas, ou seulement après un temps considérable. M. Smirnow s'en prend au procédé d'atténuation de M. Pasteur, mais bien à tort, croyons-nous. Il s'est en effet, il le dit lui-même, servi, pour inoculer ses lapins, d'une culture provenant d'un porc mort du rouget *plusieurs mois* auparavant. Il est donc fort probable que si ses lapins ne mouraient pas, la faute en était à la vieillesse de la culture, qui avait déjà perdu sa virulence en grande partie, et non pas au procédé de M. Pasteur. Or, la première chose à faire quand on veut atténuer la virulence d'une culture, c'est de se servir d'une culture qui soit virulente. M. Smirnow se servit dans la suite des vaccins contre le rouget des porcs et le choléra des poules qui lui furent envoyés par le laboratoire de M. Pasteur.

En comparant les cultures des bactéridies charbonneuses atténuées et les cultures virulentes, on remarque les différences suivantes : dans le bouillon, le charbon virulent forme d'épais flocons.

Les flocons produits par le second vaccin sont déjà moins prononcés, et le premier vaccin ne forme plus qu'un léger dépôt au fond de la culture qui trouble uniformément le bouillon dès qu'on l'agite. Dans la gélatine, les bacilles atténués se développent plus lentement; et ceux chauffés pendant 30 et 35 jours, de même que ceux provenant du laboratoire de M. Pasteur, n'y forment jamais les prolongements rhizoformes que l'on observe dans les cultures virulentes. Sur l'agar, également, les cultures atténuées forment des gazons beaucoup moins épais. M. Smirnow a cherché aussi à déterminer la rapidité de prolifération des différentes cultures. Pour cela, il ajoutait une gouttelette d'une émulsion de bacilles charbonneux à 10^{cmc} d'eau stérilisée et calculait, par des cultures sur plaques, le nombre de bacilles dans 1^{cmc} de ce mélange dont il versait la même quantité (1^{cmc}) dans 10^{cmc} de bouillon stérilisé. Le bouillon était tenu pendant 24 heures à 20°, et l'on déterminait alors sa teneur en bacilles par des cultures sur plaques. Connaissant ainsi d'une part le nombre des bacilles ensemencés, d'autre part le nombre de ceux contenus dans les 10^{cmc} de bouillon, leur multiplication était aisée à calculer. Ce procédé, ainsi que le remarque M. Smirnow lui-même, ne saurait guère donner de résultats absolus. D'abord, il est fort difficile de briser et de répartir également les flocons épais des cultures de la bactéridie charbonneuse; ensuite, suivant que l'ensemencement du bouillon se fait avec plus ou moins de bacilles, il en résultera une prolifération plus ou moins énergique. Aussi les résultats des différentes expériences ne seront-ils pas toujours comparables entre eux. Néanmoins, on peut voir par le tableau résumant les résultats que dans chaque expérience les bactéridies atténuées ont présenté un accroissement moins rapide. Ainsi, pour ne citer qu'une expérience, les bactéridies virulentes s'étaient accrues dans la proportion de 1 à 173, les bactéridies chauffées pendant 18 jours à 42°-43° dans la proportion de 1 à 56, et enfin les bactéridies chauffées 35 jours dans la proportion de 1 à 24 seulement. M. Smirnow constata encore le moindre accroissement des bactéridies atténués par un autre moyen. En répartissant dans des plaques de gélatine un *même* nombre de germes de degrés différents de virulence, on remarque au bout de quelque temps que les colonies issues de germes virulents ont un plus grand diamètre que celles provenant de germes atténués et que plus le germe est atténué, plus le diamètre des colonies est petit, ce qui démontre leur accroissement moins rapide. Il est important que le nombre des colonies sur les plaques comparées soit à peu près le même, attendu que dans les plaques très chargées de germes les colonies s'entravent mutuellement, ce qui rend leur développe-

ment plus lent que quand ils sont plus espacés. En mesurant un certain nombre de colonies de chaque plaque avec le micromètre oculaire, et en prenant la moyenne, on peut indiquer par des chiffres l'énergie de la prolifération. M. Smirnow a ainsi obtenu les diamètres suivants exprimés en millimètres : 0,6 pour le charbon virulent, 0,34 pour le vaccin de 18 jours, et 0,17 pour celui de 35 jours. Un certain nombre de photogrammes accompagnent, du reste, le mémoire de M. le D[r] Smirnow, et démontrent d'une façon très nette les différences entre les diverses plaques.

Des résultats analogues furent obtenus avec les vaccins du rouget; par contre, l'auteur ne nous dit pas si les mêmes expériences furent répétées avec le choléra des poules et ses vaccins. D'après notre expérience personnelle, le vaccin n° 2 contre le choléra des poules croîtrait plus abondamment dans la gélatine que la culture virulente. Peut-être pourrait-on aussi rappeler ici qu'il existe une catégorie de microbes infectieux, le bacille de la pneumonie de Fraenkel, par exemple, qui, au sortir de l'organisme, se cultivent péniblement, et donnent, au bout de quelques inoculations successives dans les milieux artificiels, des cultures plus abondantes, mais perdent en même temps leur virulence. Nous aurions donc là des espèces pathogènes dont l'atténuation s'accompagnerait d'une accommodation aux milieux de culture, contrairement aux faits observés par M. le D[r] Smirnow pour les bactéries atténuées du charbon et du rouget.

Pour mesurer le degré de résistance des bactéries virulentes et des bactéries atténuées à l'égard de substances nuisibles, M. le D[r] Smirnow s'est borné à deux désinfectants, l'acide phénique et l'acide muriatique, en recherchant les doses nécessaires, soit pour arrêter le développement des cultures, soit pour tuer les bactéries ou leurs spores. Il résulte de ces expériences condensées dans 13 tableaux que la sensibilité à l'égard de ces désinfectants croît avec le degré de l'atténuation. Ainsi, en ajoutant à 10 cmc de gélatine nutritive 2 gouttes d'une solution d'acide muriatique à 2 °/₀, les bacilles du charbon, virulents et atténués, croissent également bien. Quatre gouttes empêchent la bactéridie atténuée de 35 jours de se développer ; l'addition de 6 gouttes entrave la croissance de celle qui a été chauffée à 42°-43° pendant 30 jours et, enfin, quand on ajoute 10 gouttes, la bactéridie atténuée pendant 18 jours refuse de croître. De même, les spores charbonneuses virulentes croissent encore après un séjour de 8 jours dans une solution d'acide phénique à 5 °/₀, tandis que les spores des cultures atténuées par 18 jours de chauffage à 42°-43° sont tuées en 7 jours et celles des cultures chauffées pendant 35 jours en 5 jours seulement. Avec le rouget et le choléra des poules les résultats furent analogues.

M. le Dr Smirnow estime donc, en se fondant sur ses expériences, que l'atténuation n'amène pas seulement la perte d'une qualité spécifique du microbe pathogène, celle de sa virulence, mais qu'elle consiste dans une véritable dégénérescence générale, qui se traduit par une prolifération moins abondante et par une moindre résistance aux influences nocives. Peut-être même pourrait-on, dans la pratique, déterminer le degré de l'atténuation d'une bactérie pathogène d'après sa résistance et la rapidité de sa croissance.

E. F.

Dr Rintaro Mori. — **Des Bactéries pathogènes de l'eau de canalisation.** (*Zeitschrift für Hygiene*, IV, 1, p. 47).

Ainsi que l'indique le titre de son mémoire, le Dr Rintaro Mori a recherché les bactéries pathogènes que contient l'eau de canalisation de Berlin. Il a, pour cela, injecté l'eau à analyser à des souris et à des cobayes (3 à 5 gouttes aux premières, et 1 à 2 centimètres cubes aux cobayes) ; lorsque les animaux d'expérience succombaient, il isolait de leurs organes les micro-organismes qui avaient causé la mort, et inoculait de nouveaux animaux, soit avec le sang des organes, soit avec des cultures pures de ces bactéries. Il a ainsi retrouvé dans cette eau 3 espèces de microbes pathogènes : le bacille de la septicémie des souris ; un bacille ressemblant beaucoup à celui de Friedlaender ; et, enfin, un bacille nouveau qu'il nomme *bacille court du canal.* Il nous paraît probable qu'en commençant par isoler au moyen de cultures sur plaques les bactéries habitant cette eau, pour les inoculer ensuite à l'état de cultures pures, le Dr Mori eût rencontré un plus grand nombre d'organismes pathogènes. Dans les infections produites par les bactéries la question de quantité n'est pas négligeable, et tel animal qui résistait à l'inoculation d'un ou deux microbes pathogènes contenus dans quelques gouttes d'eau, eût peut-être succombé à l'injection de quelques gouttes de bouillon contenant des millions du même microbe à l'état de pureté.

Le premier organisme pathogène trouvé par le Dr Mori, celui de la septicémie des souris, est bien connu ; nous pouvons donc nous dispenser de le décrire ici. Le second est un bâtonnet à forme elliptique, d'un diamètre de 0,9 à 1,6 μ. Dans l'organisme animal, ces bâtonnets sont toujours entourés d'une capsule longue de 4,5 μ et large de 2,5 μ, qui manque parfois dans les cultures. Ces bâtonnets n'ont pas de mouvement propre, et ne se colorent pas d'après la méthode de Gram. Deux bâtonnets sont parfois entourés d'une

seule capsule. Ils croissent sur la gélatine sans la liquéfier, sur la gélose et sur la pomme de terre. Les colonies sont d'un blanc de porcelaine, sauf sur la pomme de terre, où elles forment un gazon jaunâtre. Dans le bouillon, il se forme une pellicule. Il se distingue du bacille de Friedlaender en ce qu'il tue toujours les souris, et que les lapins succombent parfois à son injection dans la cavité pleurale.

Le *bacille court du canal* est long de 2,5 μ et large de 0,8 à 1 μ, et se colore plus fortement aux pôles qu'au milieu. La méthode de Gram ne lui est pas applicable. Sur les plaques de gélatine, à la température de la chambre, il ne croît qu'au bout de 2 à 3 semaines sous forme de petits disques jaune-pâles. Dans les cultures par piqûre, il se produit en 3 semaines un mince enduit jaunâtre à la surface. Il ne liquéfie pas la gélatine. Sur la gélose placée à l'étuve, il croît en 2 à 3 jours et forme un gazon jaunâtre. Il ne croît pas sur la pomme de terre. Inoculé par la voie sous-cutanée, il tue les souris en 16 et 30 heures, les cobayes en 2 jours. Il tue également les lapins.

E. F.

Nocard et Roux. — **Sur la culture du Bacille de la Tuberculose.** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. I, p. 19).

Le Dr Rob. Koch, à qui revient le mérite d'avoir le premier isolé et décrit le bacille de la tuberculose, a pu, en dehors de l'économie, cultiver ce bacille sur du sérum de sang de mouton ou de bœuf coagulé vers la température de 68°. L'étude approfondie de ce procédé de culture a suggéré à MM. Nocard et Roux quelques modifications très heureuses, grâce auxquelles il est devenu facile de pratiquer dans tous les laboratoires la culture de cet organisme pathogène.

Ces savants ont d'abord fait ressortir les inconvénients assez nombreux qu'offre le sérum pur, employé à l'état gélatiniforme; ils ont indiqué un procédé très simple pour obtenir directement un sérum exempt de tout germe, ce qui évite la stérilisation de ce liquide par la méthode du chauffage *discontinu* à 58°; stérilisation qui ne saurait être réelle, quand les organismes introduits accidentellement dans le sérum appartiennent à la classe des bactériens vivant et se multipliant au-dessus de cette température.

MM. Nocard et Roux ont, à l'exemple de M. Pasteur, recueilli le sang dans les veines des animaux à l'abri des contaminations venues de l'extérieur, puis ils ont séparé du caillot de sang rétracté à basse température (10°-12°) le sérum clair et limpide qui en exsude. Les cultures obtenues sur ce liquide animal pur coagulé sont

languissantes, même après l'adjonction au sérum d'un peu de peptone (1 p. °/₀), de sel et de sucre, conseillée par M. Nocard. La couche superficielle de *substratum* s'irise, se dessèche, et l'organisme croît mal. En ajoutant au sérum un peu de glycérine stérilisée avant sa gélatinisation, on prévient cette dessication fâcheuse, et l'on obtient des cultures plus hâtives et plus belles. Les habiles expérimentateurs que nous venons de nommer sont, non seulement portés à croire que la glycérine exerce une action favorable en entretenant l'humectation du milieu, mais que cette substance d'ailleurs fermentescible fournit au bacille un aliment favorable à son développement.

Après leurs recherches sur le sérum, MM. Nocard et Roux ont abordé la culture du microbe de la tuberculose sur la gélose, culture déjà tentée par M. le Dr Koch, mais avec un succès moindre que sur le sérum de sang. La gélose nutritive glycérinée à 6 à 8 °/₀, stérilisée à 115°, a fourni un milieu remarquablement favorable à la multiplication du bacille; abandonnées à 39°, ces sortes de cultures deviennent confluentes et se présentent en couches épaisses, mamelonnées, du plus bel aspect.

Enfin, les mêmes auteurs ont également démontré que les bouillons nutritifs chargés de 5 °/₀ de glycérine fournissent pareillement des milieux propices au bacille de la tuberculose, qui y manifeste sa présence par la formation de flocons volumineux gagnant le fond du vase, où ils se tassent et deviennent plus difficilement dissociables que les flocons analogues formés par la bactéridie charbonneuse. Les liqueurs minérales glycérinées elles-mêmes ont montré à l'égard du *Bacillus tuberculosis* un degré de nutritivité appréciable.

Telles sont les recherches, aussi intéressantes qu'utiles, dont MM. Nocard et Roux ont doté la bactériologie. Simplifier et rendre pratique un procédé de culture très délicat était le but qu'ils avaient visé et qu'ils ont pleinement atteint.

Dr M.

Dr A.-D. Pawlowsky. — **Culture des Bacilles de la Tuberculose sur la pomme de terre.** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, page 315).

Personne, avant ce savant russe, n'était parvenu à cultiver le bacille de la tuberculose sur la pomme de terre; M. le Dr Pawlowsky a pu, au contraire, obtenir des résultats positifs satisfaisants en opérant de la manière suivante.

Dans des tubes à essais étranglés et de formes semblables à ceux

qu'a imaginés le Dr Roux, on dépose des tranches de pomme de terre qui sont ensuite stérilisées pendant 1/2 heure à l'autoclave vers 115°. Les tubes à essais, retirés du bain de vapeur, sont placés quelque temps à 30°, ce qui permet à la pomme de terre de se refroidir et de s'égoutter; on pratique alors l'ensemencement en introduisant assez profondément le produit d'une culture de bacille tuberculeux dans la substance même de la pomme de terre. Enfin, ces tubes sont scellés et maintenus à 39°.

Après une douzaine de jours d'incubation, la culture bacillaire apparaît avec ses caractères spéciaux, la surface contaminée devient blanchâtre, lisse, et tranche nettement sur la couleur jaune de la pomme de terre. En vieillissant de 5 à 6 semaines, la surface ensemencée se couvre de granulations blanc-grisâtres. On obtient les mêmes résultats en se servant des tranches de pomme de terre glycérinées, le bacille paraît même s'y développer avec plus de rapidité. En outre, ces diverses cultures ne le cèdent pas en virulence à celles qu'on peut obtenir sur d'autres milieux, et les organismes qui en proviennent, inoculés dans la veine de l'oreille des lapins, tuent ces animaux en 18 jours.

Le Dr Pawlowsky termine sa note en faisant observer que si plusieurs expérimentateurs, au nombre desquels le Dr Koch, n'ont pu faire croître le bacille de la tuberculose sur la pomme de terre, c'est pour avoir méconnu les conditions d'humidité indispensables à la vie de ce redoutable microorganisme, conditions qui se trouvent réalisées par l'emploi de tubes scellés.

Dr M.

RHUMBLER. — **Différentes sortes de Kystes et Histoire du développement des Colpodes.** (*Zeitschr. für Wissench. Zoolog.*, Bd XLVI, Heft 4, 1888, pages 549-601, pl. XXXVI).

L'enkystement du *Colpoda cucullus* a été depuis longtemps signalé par les observateurs, qui tantôt l'ont pris pour une mue, tantôt lui ont donné sa vraie signification. M. Rhumbler a repris l'étude de ce phénomène et a découvert un certain nombre de faits nouveaux et intéressants qui méritent d'attirer l'attention des observateurs.

L'auteur distingue trois sortes de kystes : le kyste de division, le kyste de conservation et enfin le sporokyste ou kyste de multiplication. C'est à propos de ce dernier surtout que les faits observés présentent le plus d'intérêt.

Le kyste de division est caractérisé par la présence d'une ouverture dans sa paroi et la présence de bols alimentaires dans l'endo-

plasme. L'ouverture du kyste, qui n'a encore été signalée par aucun observateur, serait due à ce fait que, l'infusoire tournant toujours sur son axe longitudinal pendant qu'il sécrète son kyste, le liquide, chassé de la vésicule contractile placée à l'extrémité de cet axe, détermine la formation d'un canal excréteur; dans le kyste de division, la vésicule contractile ne cesse jamais de pulser.

Dans le kyste de conservation, au contraire, les bols alimentaires disparaissent, la vésicule contractile s'arrête soit en systole, soit en diastole.

Enfin, dans le sporokyste, l'on observe jusqu'à trois enveloppes concentriques, la disparition complète des granules d'assimilation, et l'excrétion en dehors du plasma d'une masse d'acide urique. Dans cette espèce de kyste, l'on ne trouve plus trace de l'organisation du colpode; l'animal semble s'être transformé en une boule homogène.

Le kyste de division peut se transformer en un kyste de conservation ou en un sporokyste; le kyste de conservation peut aussi donner un sporokyste; ce dernier provient de la transformation d'une des deux formes précédentes, c'est-à-dire soit d'un kyste de division, soit d'un kyste de conservation.

L'auteur a décrit et figuré la formation du sporokyste ainsi que les phénomènes internes qu'il présente. Le colpode commence par former un kyste de conservation dans l'intérieur duquel il continue à tourner activement; peu à peu, son endoplasme s'éclaircit, le corps diminue de volume et l'animal émet une masse d'acide urique qui demeure dans l'intérieur de la première membrane. A ce moment, il nage librement dans le kyste, car son volume a énormément diminué. Il s'enkyste de nouveau sans quitter sa première enveloppe. Tantôt, dans ce cas, l'animal ne bouge plus et forme un sporoblaste, tantôt, au contraire, il s'éveille de nouveau, diminue encore de volume, émet un second amas d'acide urique et forme un troisième kyste concentrique aux deux premiers. Quoi qu'il en soit, l'animal, définitivement constitué en sporoblaste, se transforme en une masse homogène à l'intérieur de laquelle apparaissent des spores composées d'une petite masse protoplasmique complètement homogène, sans trace aucune de noyau. Ces spores paraissent se trouver principalement à la surface du sporoblaste, contre la face interne de la membrane du sporokyste. Celle-ci ne tarde pas à se fendre, les spores sont mises en liberté. A ce moment, elles ne présentent aucun mouvement, sont complètement réfractaires à l'action des réactifs. Bientôt elles grossissent, présentent plusieurs grains nucléaires qui se fusionnent en un noyau unique et se transforment en petites amibes pourvues d'une

vésicule contractile. Ces amibes se transforment ensuite en jeunes colpodes.

Cette sporulation du kyste de colpode est fort bien décrite par l'auteur qui dit l'avoir suivie sur le vivant dans toutes ses phases. Elle constitue la partie la plus intéressante du travail de M. Rhumbler et éclaire un côté encore obscur de la biologie des Protozoaires.

F. D.

Dr August Schuberg. — **Les Protozoaires de la panse des Ruminants.** (*Zoologischen Zahrbüchern,* Dritter Band, 1888, p. 365-418, Taf. XII, und XIII).

Les Protozoaires parasites de la panse des ruminants ont été signalés, dès l'année 1843, par Gruby et Delafond; mais, depuis cette époque, personne ne les avait étudiés d'une façon complète et satisfaisante. C'est cette tâche qu'a entreprise le Dr Schuberg.

Dans son travail, l'auteur décrit et figure huit espèces, dont trois sont l'objet de la création de deux genres nouveaux *Bütschlia* et *Dasytricha.*

Nous résumons ici les diagnoses de ces espèces.

Bütschlia parva n. sp. — Corps ovoïde brusquement tronqué à son extrémité antérieure, long de 0,03-0,053 m. m. Portion antérieure densément ciliée, le reste du corps nu. Bouche située antérieurement dans l'axe longitudinal, suivie d'un court pharynx. Noyau sphérique, pas de nucléole, pas de vésicule contractile. Au quart antérieur du corps et latéralement une vésicule contenant des concrétions cristallines. Ectoplasme épaissi antérieurement. Endoplasme homogène, finement granuleux, dépourvu de bols alimentaires.

Bütschlia neglecta n. sp. — Corps ovoïde brusquement tronqué à son extrémité antérieure, creusé à son pôle inférieur de quatre profondes échancrures, long. de 0,057 m. m. Portion antérieure densément ciliée, une zone ciliaire au tiers inférieur du corps. Une autre un peu au dessous de la zone ciliaire antérieure. Le reste de l'organisation comme chez l'espèce précédente.

Isotricha prostoma Stein. — Corps cylindrique, élastique, non contractile, long de 0,08-0,16 m. m. Extrémité postérieure un peu plus effilée que l'antérieure. Bouche placée antérieurement sur la face ventrale. Revêtement ciliaire uniforme. Noyau ovoïde muni d'un nucléole. Vésicules contractiles nombreuses communiquant

avec l'extérieur par des pores. Ectoplasme épais. Endoplasme homogène, sans vacuoles alimentaires.

Isotricha intestinalis Stein. — Organisation à peu près analogue à celle de la précédente, mais bouche située tout à fait latéralement sur la face ventrale, 0,097-0,131 m. m.

Ces deux espèces sont particulièrement remarquables par la présence de prolongements de la couche ectoplasmique dans l'endoplasme qui se trouve ainsi coupé par des cloisons se rendant au noyau. L'auteur, sans rien présumer de la nature de cette différenciation, nomme ces prolongements *Kernstiele.*

Dasytricha ruminantium n. sp. — Genre voisin du précédent. En diffère par plusieurs points importants. Le corps, au lieu d'être cylindrique, est comprimé dans le sens dorso-ventral. Il a 0,05 - 0,1 de long. Bouche placée antérieurement un peu du côté de la face ventrale. Pas de couche ectoplasmique distincte. Un noyau sphérique ou ovoïde et un nucléole. Vésicule contractile unique, antérieure. A l'extrémité postérieure l'endoplasme renferme des fibrilles qui remontent jusque vers le milieu du corps et dont la signification est inconnue. Endoplasme dépourvu de bols alimentaires.

Entodinium bursa Stein. — Corps ovoïde, aplati dans le sens dorso-ventral, brusquement tronqué antérieurement, long de 0,055-0,114 m. m. Ouverture buccale très large, unique, comprenant presque toute la portion tronquée, et entourée d'une spirale de cirrhes insérés dans un sillon et descendant dans le pharynx. Corps nu, strié longitudinalement. Noyau cylindrique avec un nucléole et placé contre la face gauche du corps. Vésicule contractile logée à droite du pharynx. Endoplasme rempli de débris végétaux.

Entodinium caudatum Stein. — Cette espèce diffère de la précédente par les trois pointes de son extrémité, dont l'une dépasse de beaucoup les deux autres. Longueur 0,053 m. m.

Entodinium minimum Stein. — Longueur 0,038. Corps conique, strié longitudinalement. Organisation semblable à celle des précédents, mais la vésicule contractile est placée vers le milieu de la face dorsale, près du noyau.

F. D.

L'Éditeur-Gérant :
GEORGES CARRÉ.

TROYES, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

ACTION DES FERMENTS ALCOOLIQUES
sur les diverses espèces de sucre

PAR

Le Dr Emil Chr. HANSEN
Chef du laboratoire de physiologie de Carlsberg (Copenhague)

I. — Introduction.

Les expériences décrites plus bas ont été pratiquées sur quatre espèces de sucre : la saccharose, la maltose, la lactose et la dextrose, et avec environ 40 levûres ; savoir : les six Saccharomyces que j'ai introduits, en 1883, dans la littérature scientifique, le *Sacch. Marxianus,* le *Sacch. exiguus,* le *Sacch. membranæfaciens ;* avec dix espèces de levûres basses des brasseries (*Sacch. cerevisiæ*), le *Mycoderma cerevisiæ,* le *Sacch. apiculatus ;* avec sept espèces de *Torula*, du genre de M. Pasteur ; avec le *Monilia candida,* le *Mucor erectus,* le *Mucor spinosus,* le *Mucor mucedo,* le *Mucor racemosus,* et, enfin, quelques espèces imparfaitement décrites de ce dernier genre et l'*Oïdium lactis.* C'est, je crois, l'étude la plus vaste qui ait été exécutée jusqu'ici dans ce domaine. Je suis néanmoins convaincu qu'il existe encore dans la nature des combinaisons physiologiques plus nombreuses que celles que j'ai observées, mais, j'ai en même temps lieu de penser que mes recherches ont été assez étendues pour donner, en somme, une idée claire de la variété qui règne dans ce monde particulier de microorganismes.

Ce que nous avons appris jusqu'ici à ce sujet se réduit à peu de chose ; on ignorait surtout quelle est, dans la plupart des cas, l'action des levûres alcooliques sur la maltose; cependant, au point de vue de l'industrie de la fermentation, cette espèce de sucre présente un intérêt tout spécial, de même qu'il s'y rattache aussi plusieurs problèmes théoriques. Pour des raisons pratiques, nous n'avons pas compris les bactéries dans ce groupe de recherches, bien qu'il en existe quelques-unes qui soient capables de provoquer la fermentation alcoolique.

Les sucres sur lesquels j'ai opéré étaient dissous dans l'eau, sans addition aucune (tel a été toujours le cas, sauf indication contraire), ou avec addition d'une décoction d'eau de levûre, souvent employée par M. Pasteur et d'autres auteurs. Le moût était du moût houblonné ordinaire, à 14 ou 15 $^0/_0$, tel qu'on l'emploie dans les brasseries à fermentation basse, pour la bière de garde. Tous les liquides étaient, cela va sans dire, stérilisés, et on a toujours opéré avec des cultures absolument pures. Ces cultures, en ce qui concerne les cellules de levûre, étaient obtenues d'après la méthode décrite dans mes mémoires précédents. Pour les Mucor, j'ai pris, pour point de départ, un *seul* sporange, par conséquent un seul individu. Une expérience de plusieurs années m'a largement appris que ce procédé est le seul sûr.

Les figures insérées dans ce mémoire ont été dessinées en partie par mon aide, M. Holm, en partie par moi-même. Leur grossissement linéaire est partout de 1.000 diamètres. Un travail de cette nature doit évidemment comprendre un grand nombre d'analyses similaires, être très riche en détails, car, en effet, c'est par cette voie seule qu'on peut établir des comparaisons fructueuses et parvenir à se faire une vue d'ensemble exacte. Dans chacune de ces parties, j'ai d'abord exposé les analyses sur lesquelles tout repose, puis énoncé les résultats généraux qu'on peut en déduire. Enfin, dans un dernier chapitre, j'ai jeté un coup-d'œil rétrospectif sur la totalité des faits énoncés.

II. — Saccharomyces.

Les six espèces avec lesquelles j'ai surtout expérimenté, dans ces dernières années, à savoir : le *Saccharomyces cerevisiæ* I, le *Sacch. Pastorianus* I, le *Sacch. Pastorianus* II, le *Sacch. Pastorianus* III, le *Sacch. ellipsoïdeus* I et le *Sacch. ellipsoïdeus* II, développent toutes de l'invertine ; elles transforment par là la saccharose en sucre interverti, et la font fermenter. Il est à peine besoin d'ajouter qu'elles font aussi fermenter la dextrose. Elles provoquent également une fermentation active dans les dissolutions de maltose, surtout lorsqu'on y ajoute un peu de liquide nourricier, comme la décoction d'eau de levûre. Ces espèces sont toutes des ferments actifs qui, dans le moût de bière, à la température ordinaire d'un appartement, donnent facilement, au bout de 14 jours, 4 à 6 volumes $^0/_0$ d'alcool. Par contre, elles ne peuvent, pas plus que les nombreuses levûres essayées jusqu'ici, provoquer la fermentation dans les dissolutions de lactose. D'autres auteurs, au nombre desquels MM. Pasteur, Fitz et Duclaux (1), sont arrivés au même résultat. Ce qui précède s'applique également à toutes les formes de levûres basses industrielles qui ont été étudiées.

Nous en exceptons le *Sacch. Marxianus*, le *Sacch. exiguus* et le *Sacch. membranæfaciens* qui se comportent tout autrement.

Saccharomyces Marxianus, nov. spec. — Sous ce nom je désigne une espèce qui, cultivée dans du moût de bière, suivant la méthode que j'ai indiquée dans mes mémoires antérieurs, se développe en petites cellules ovales et oviformes, qui ont le même aspect que le *Sacch. exiguus* et le *Sacch. ellipsoïdeus*. Mais, entre ces cellules, il s'en produit rapidement d'autres, allongées en boudin, souvent réunies en colonies. Laisse-t-on la culture reposer pendant

(1) Dernièrement, cependant, M. Duclaux a annoncé dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887, n° 12, qu'il a découvert dans le lait une levûre qui peut provoquer la fermentation alcoolique dans une dissolution de lactose. Ce savant ne dit pas si cette espèce produit ou non des endospores.

quelque temps, il se forme de petits corps ressemblant à des moisissures, qui nagent en partie dans le liquide et en partie se précipitent. Ils se composent de colonies enchevêtrées, ayant l'apparence d'un mycélium, et essentiellement de même nature que les voiles que j'ai décrits et représentés chez mes six espèces de Saccharomyces (1); elles sont comme eux formées d'articles étranglés à leurs points de jonction, se séparant facilement. Nous avons donc ici une espèce que nous pourrions, d'après M. Reess, rapporter tout aussi bien au groupe *Sacch. Pastorianus* qu'au *Sacch. exiguus* ou au *Sacch. ellipsoïdeus*. Elle appartient aux Saccharomyces qui ne développent pas beaucoup d'endospores. Ces derniers se différencient par leur forme le plus souvent réniformes; cependant, d'ordinaire, on trouve en même temps des formes rondes et ovales. J'ai aussi observé des irrégularités analogues chez les spores d'autres Saccharomyces, mais moins prononcées que chez l'espèce dont il s'agit. Après 2 à 3 mois de repos, les cultures au moût, dans les ballons à deux cols, ne présentent que des traces de voiles, formés d'un petit nombre de cellules, les unes courtes et en forme de boudin, les autres ovales. C'est une des espèces avec lesquelles j'ai réussi, dans certaines conditions de culture sur un *substratum* nutritif solide, à faire produire par la cellule de Saccharomyces un mycélium semblable à celui qui s'observe si souvent chez plusieurs moisissures à conidies de levûre.

Dans le moût de bière, elle n'a donné, même après un long repos, que 1 à 1,3 volume $^0/_0$ d'alcool, et aussi n'a-t-elle produit aucune fermentation dans la maltose. Elle intervertit les dissolutions de saccharose, et dans l'une d'elles, composée de 15 $^0/_0$ de saccharose dans de l'eau de levûre, elle a, après 18 jours, à 25° cent., produit 3,75 vol. $^0/_0$ d'alcool, et, après 38 jours, 7 vol. $^0/_0$.

Dans deux dissolutions d'eau de levûre, dont l'une contenait 10 et l'autre 15 $^0/_0$ de dextrose, elle a produit dans les mêmes conditions, après 14 jours, dans le premier cas 5,1, et dans le second 5,6 vol. $^0/_0$ d'alcool. Au bout de un mois

---

(1) Emil. Chr. Hansen : *Les voiles chez le genre Saccharomyces* (*Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg*, vol. II, liv. 4, 1886, pl. III-VIII).

de repos, on a trouvé dans le premier ballon 6,5, et dans le second 8 vol. $^0/_0$ d'alcool.

J'ai donné à cet intéressant Saccharomyces le nom du zymotechnologue distingué, M. Louis Marx, de Marseille, qui, le premier, l'a découvert sur des raisins.

Saccharomyces exiguus. — J'ai désigné par ce nom un Saccharomyces qui, dans les conditions de culture mentionnées plus haut, développe une végétation qui cadre avec les formes de cellules auxquelles M. Reess a donné le même nom ; voilà pourquoi je propose qu'il soit adopté pour l'espèce dont il est ici question. Je ne saurais naturellement décider si M. Reess l'a précisément eu en vue, car les petites cellules de levûre, comme celles qui ont reçu de lui et de ses successeurs le nom de *Sacch. exiguus*, peuvent être engendrées dans certaines conditions par n'importe quelle espèce de Saccharomyces.

Le *Sacch. exiguus* ne se prête certainement pas mieux que l'espèce précédente au développement des endospores. Sa formation en voiles est également très pénible; ses cultures dans le moût de bière n'en ont donné que des traces, même après plusieurs mois de repos dans des ballons Pasteur; par contre, il produit un anneau de levûre assez développé au bord du liquide. Les cellules des voiles ressemblent, en général, à celles de la levûre de fond; cependant, les cellules courtes en forme de boudin et les petites formes y sont certainement plus nombreuses. Il y a quelques années, j'ai trouvé assez communément le *Sacch. exiguus* dans une levûre de boulangerie. Il se distingue du *Sacch. Marxianus* surtout en ceci que dans les cultures au moût il ne produit pas de colonies d'apparence mycélienne, et son *substratum* nourricier solide aucun mycélium. Mais, dans son action sur les sucres, il ressemble à cette espèce, comme je l'ai déjà fait observer dans mes mémoires de 1886. Cependant, dans les conditions où j'ai opéré, il a produit une fermentation plus active, tant dans les dissolutions de saccharose que dans celles de dextrose.

Dans les cultures dans le moût, il n'a donné, comme l'espèce précédente, que 1 à 1,3 vol. $^0/_0$ d'alcool, et, après plusieurs mois d'abandon, cette proportion d'alcool n'a pas augmenté.

Le *Sacch. exiguus* ne provoque aucune fermentation dans les dissolutions de maltose, mais il intervertit celles de saccharose; et, dans des dissolutions renfermant 10 et 15 $^0/_0$ de sucre de canne dans de l'eau de levûre, il a pu produire, après 14 jours de culture à 25° cent., 5,6 vol. $^0/_0$ d'alcool. Après 26 jours de repos, on a trouvé dans le ballon, avec la dissolution concentrée de sucre, 6 vol. $^0/_0$ d'alcool.

Dans deux solutions de 10 à 15 $^0/_0$ de dextrose dans de l'eau de levûre, il a, dans les mêmes circonstances, donné respectivement, après 14 jours, 6,4 et 8 vol. $^0/_0$ d'alcool; après un mois d'attente, la quantité d'alcool, dans les deux cas, n'avait pas varié.

Nous arrivons maintenant à une espèce nouvelle.

Saccharomyces membranæfaciens, nov. spec. — Dans le moût de bière, cette espèce produit rapidement, sur toute la surface du liquide, un voile gris clair, plissé et fortement développé, composé principalement de cellules en forme de boudin et de cellules allongées ovales, riches en vacuoles et ayant en général l'air plus ou moins vides. Elles sont en partie réunies en colonies, en partie isolées, et il y a entre elles un abondant mélange d'air. Le *Sacch. membranæfaciens* se distingue par sa grande richesse en endospores, car ceux-ci ne se développent pas seulement en nombre considérable dans les conditions de culture indiquées pour les espèces précédentes (1), mais aussi d'ordinaire dans les voiles.

Les cellules bien réparties dans une gélatine nourricière, composée de moût de bière additionnée de 5 à 6 $^0/_0$ de gélatine, forment des taches mates, grises, souvent d'une légère teinte rougeâtre, qui sont d'ordinaire étalées, arrondies et ridées. Cette description s'applique aux végétations qui se sont complètement fait jour; les taches encore recouvertes par la gélatine ont, en effet, un tout autre aspect; et, dans le cas où celle-ci est en tranche si mince qu'on ne peut l'apercevoir qu'à grand peine, elles font l'impression d'appartenir à une autre espèce, ce qui est un nouvel exemple des erreurs auxquelles on peut être

(1) Emil. Chr. Hansen : *Les Ascospores chez les genres Saccharomyces* (*Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg*, IIe vol., 2e livr., 1883, p. 30).

exposé dans ces recherches. Les taches complètement développées se distinguent facilement de celles qui, dans des conditions analogues, sont produites par tous les autres Saccharomyces examinés jusqu'ici ; par contre, elles ressemblent beaucoup aux taches que forment le *Mycoderma vini* et le *Mycoderma cerevisiæ* (1).

Le *Sacch. membranæfaciens* ne provoque la fermentation, ni du moût de bière, ni d'aucune des quatre espèces de sucre, et n'intervertit pas non plus la saccharose. Ses végétations sur la gélatine nourricière se distinguent par la grande facilité relative avec laquelle elles la fluidifient.

J'ai trouvé le *Sacch. membranæfaciens* dans une masse gélatineuse qui s'était développée sur des racines d'orme attaquées par divers champignons. Sous plusieurs rapports, il ressemble au *Mycoderma vini* et au *Mycoderma cerevisiæ,* également appelé, mais à tort, *Sacch. mycoderma,* dans les ouvrages scientifiques. Outre plusieurs différences, il s'écarte cependant surtout de ces deux espèces, par ce caractère qu'il est un véritable Saccharomyces, donnant lieu à un développement très marqué d'endospores, lesquels, on le sait, font complètement défaut chez ces Mycodermes. Tandis que les espèces des *Mycoderma,* ci-dessus nommés, appartiennent aux champignons les plus communs, et ont été, par suite, l'objet de recherches sans nombre, le *Sacch. membranæfaciens* doit, au contraire, être considéré comme une espèce rare ; malgré des recherches poursuivies pendant plusieurs années, je ne l'ai trouvé qu'une seule fois. Il n'apparaît pas dans les conditions où le *Mycod. vini* et le *Mycod. cerevisiæ* donnent rapidement une végétation spontanée.

Nous avons donc ici des cellules de levûre qui appartiennent bien à une espèce tout à fait typique de Saccharomyces, mais qui, au point de vue physiologique, ne peuvent cependant être rangées parmi les ferments alcooliques. M. Marpmann a cru trouver un organisme analogue dans le prétendu *Sacch. niger*, mais, après examen,

---

(1) Emil. Chr. Hansen : *Méthodes pour obtenir des cultures pures de Saccharomyces et de microorganismes analogues* (*Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg,* IIe vol., 4e livr., 1886, p. 101).

j'ai trouvé qu'il ne produit pas d'endospores, qu'il ne peut être classé parmi les Saccharomyces, mais appartient aux *Cladosporium* ou aux *Fumago.*

Jusqu'ici le *Sacch. membranæfaciens* est donc le seul Saccharomyces qui ne produise pas de fermentation alcoolique, et le seul qui n'ait pas d'invertine; tous les autres, comme on l'a vu, déterminent une fermentation active dans la saccharose et la dextrose, et quelques-uns aussi dans les dissolutions de maltose.

Résultats. — Notre première conception du genre Saccharomyces a été notablement modifiée par ces études; au point de vue physiologique, les espèces qui le composent ne peuvent plus dorénavant être caractérisées comme étant des ferments alcooliques, et, au point de vue morphologique, quelques-unes du moins peuvent développer un mycélium. Mes recherches ont aussi donné de nouveaux points de repaire pour la connaissance de ces espèces, comme par exemple les différences bien marquées qui, dans plusieurs cas, se manifestent dans l'action des cellules sur les sucres (1).

---

(1) Comme il a été dit dans l'introduction, l'objet principal de ce mémoire a été de déterminer si les espèces, sur lesquelles j'ai expérimenté, peuvent ou non faire fermenter les quatre sortes de sucre nommées plus haut, afin d'obtenir un aperçu des combinaisons qui résultent de ce point de vue. Les autres questions connexes, telles, par exemple, que le pouvoir fermentatif des espèces, relativement à la production de l'alcool, devaient, par suite, être rejetées un peu plus à l'arrière plan. Il ressort de la comparaison de mes expériences sur le *Sacch. Marxianus* et le *Sacch. exiguus*, et encore plus clairement des chapitres suivants, que je suis arrivé par cette voie à observer également sous ce rapport des différences bien nettes. Mais si mon travail avait dû être complet sur ce sujet, il m'aurait fallu entreprendre des expériences comparatives avec toutes les espèces dans un seul et même liquide nourricier, ce qui ne pouvait se concilier avec ma tâche principale. D'ailleurs, de pareilles recherches ont été exécutées récemment par M. Borgmann (*Zur chemischen charakteristik durch Reinculturen erzeugter Biere*, Fresenius, Zeitschr. f. analyt. chemie, XXV, Heft. IV, 1886, p. 532), et par M. Amthor (*Studien über reine Hefen. Zeitschr. f. physiolog. chemie. XII*, 1888, p. 64). Le résultat principal a été le même dans les deux cas, à savoir: que les diverses espèces de Saccharomyces exécutent dans le moût de bière un travail chimique différent. Les levûres basses essayées dans les brasseries ont aussi, sous ce rapport, donné des résultats différents. Il découlait, du reste, déjà de mes recherches sur les maladies provoquées par eux dans la bière, que, dans les brasseries, les Saccharomyces exercent une action chimique différente, suivant qu'ils appartiennent à une espèce ou à une autre. (*Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg*, IIe vol, 2e livr., 1883, p. 52, et *Zeitschr. f. das ges. Brauwesen, München*, 1884, p. 273). L'exactitude de la doctrine exposée dans ce dernier mémoire a été confirmée par M. Groenlund dans une étude expérimentale: « Ueber bitteren unangenehmen Beigeschmack des Bieres. » (*Zeitschr. f. das ges, Brauwesen. München*, 1887, p. 469).

Tous les Saccharomyces observés, à l'exception d'une seule espèce (le *Sacch. membranæfaciens*), sont donc des ferments alcooliques types avec séparation d'invertine ; ils font fermenter aussi bien la saccharose que la dextrose, celle-ci avec une énergie plus grande que celle-là, et beaucoup en même temps la maltose. Nous avons ainsi l'explication du rôle si considérable que ces organismes jouent dans l'industrie de la fermentation. En effet, d'après ce qui précède, la plupart d'entre eux peuvent être employés, non seulement dans la fabrication des vins de raisins et d'autres fruits, mais aussi dans l'exploitation des brasseries et des distilleries. Les recherches précédentes nous apprennent de nouveau que, dans l'industrie, on peut et on doit faire un choix parmi eux.

Je traiterai plus tard en détail des espèces nouvelles dans une étude systématique du genre Saccharomyces, à laquelle je compte joindre des planches à l'appui.

III. — Levûres alcooliques à cellules ressemblant à des Saccharomyces.

Avec le *Mycoderma vini,* le *Mycod. cerevisiæ* et le *Sacch. apiculatus*, je range dans cette catégorie des cellules de levûre les espèces dont le faible pouvoir fermentatif se rapproche de celles que M. Pasteur a appelées *Torula* dans ses études sur la bière (nom dont je me suis servi afin d'avoir pour elles une désignation provisoire), et, enfin, une espèce qui se rattache à ces dernières, le *Monilia candida.* Tous ces organismes développent dans les liquides fermentescibles des végétations ressemblant beaucoup aux Saccharomyces, et avec lesquelles elles ont souvent été confondues, mais qui s'en séparent pourtant nettement par la propriété de ne pas donner d'endospores. Quelques-uns peuvent développer un mycélium et une végétation plus ou moins abondante de moisissures, d'autres non.

Mycoderma cerevisiæ. — Nous avons relevé plus haut que les cellules de cette espèce sont très répandues. Dès

que la bière, le vin ou des liquides analogues sont exposés à l'action directe de l'air, ils ne tardent pas à se recouvrir d'un voile formé par ce Mycoderme; la bière qui se trouve dans les caves froides de garde des brasseries n'en est pas même exempte.

Les noms de *Mycod. vini* et de *Mycod. cerevisiœ* lui ont précisément été donnés d'après la manière dont il se manifeste. Il ne fait fermenter aucun des sucres mentionnés plus haut, et n'intervertit pas non plus les dissolutions de saccharose.

Saccharomyces apiculatus. — Ce Saccharomyces tire son nom spécifique de l'aspect de ses petites cellules en forme de citron; quant à son nom générique, il le porte à tort, comme nous l'avons fait observer plus haut; mais il est tellement connu sous ce nom, dans la littérature scientifique, qu'on doit le lui conserver jusqu'à ce qu'on puisse un jour, avec quelque sûreté, le faire entrer dans une nouvelle classification. Dans mes travaux précédents (1), j'ai montré que cette espèce ne produit dans le moût de bière qu'une faible fermentation, 1 vol. °/₀ d'alcool. Les expériences que j'ai exécutées alors pour constater si elle pouvait ou non déterminer la fermentation de la maltose, faisaient déjà présager un résultat négatif; en reprenant plus tard ce travail, j'ai trouvé la confirmation de ce résultat. Il ressort, de même, des recherches mentionnées plus haut, qu'elle n'intervertit pas la saccharose, et ne peut pas la faire fermenter.

Au sein des dissolutions de dextrose à 15 et à 10 °/₀ dans l'eau de levûre, cet organisme produit une fermentation assez active. Après 15 jours de repos à la température de 25° cent., il a donné respectivement 2,8 et 2,6 vol. °/₀ d'alcool, et, après un mois et demi, un peu plus de 3 vol. °/₀, proportion qui ne s'est pas accrue; après 3 mois, elle était encore la même. A la fin de l'expérience, les liquides renfermaient encore du sucre, ce qui prouve que

---

(1) Emil. Chr. HANSEN : *Ueber Saccharomyces apiculatus* (Hedwigia, 1880, p. 75), et principalement *Sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature* (*Compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg*, Ier vol., 1881, p. 159). *Nouvelles recherches sur les rapports des cellules dans la nature* (*Botan. Centralblatt*, B. XXI, 1885, nr 6).

le *Sacch. apiculatus* n'a pu pousser la fermentation jusqu'au bout. Dans une autre expérience, pratiquée à 25° cent. avec 10 % de dextrose dans l'eau de levûre, on a trouvé, après 15 jours, 3,7, et après 25 jours, 4,3 vol. % d'alcool.

Torula de M. Pasteur. — Nous arrivons au groupe des cellules de levûre que nous avons appelé *Torula*, suivant les remarques faites plus haut. Dans un mémoire publié en 1883, j'ai décrit 5 espèces de ce groupe. Je dois également mentionner que M. Roux, collaborateur distingué de M. Pasteur, a, en 1881, étudié un organisme qui semble de même s'y rattacher, incapable comme elles de produire d'invertine, et qui déterminait une fermentation bien marquée dans les dissolutions de dextrose, mais non dans celles de saccharose et de lactose. D'autres auteurs ont fait plus tard des observations analogues.

De mes 5 espèces de *Torula,* deux seulement développent de l'invertine, et c'est à peine si quelques-une d'entre elles font fermenter la maltose; leur action sur le moût de bière et les dissolutions de saccharose ont seules été déterminées directement, et lorsque, longtemps après, j'ai voulu reprendre ces expériences, il n'en existait plus dans mon laboratoire, et je dus me procurer de nouveaux matériaux.

J'ai recueilli par hasard, dans l'air, la première des deux espèces nouvelles que je vais maintenant décrire. Les jeunes et vigoureuses végétations de cette espèce, cultivées, comme il a été dit plus haut, dans du moût de bière, se composent de petites cellules de levûre rondes et ovales, telles que les représente la *fig. 1.*

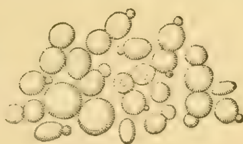


Fig. 1.

Dans le moût de bière, elles déterminent une fermentation assez marquée, pouvant produire jusqu'à 1,3 vol. % d'alcool, mais elles ne font pas fermenter les dissolutions de maltose. Elles intervertissent la saccharose; dans les solutions à 10 et 15 % de ce sucre dans l'eau de levûre, elles donnent respectivement, après 14 jours, à 25° cent., 5,1 et 6,2 vol. %

d'alcool. La culture dans ce dernier liquide, exposée pendant deux mois à la température ordinaire d'un appartement, renfermait, au bout de ce temps, 7 vol. % d'alcool, et tout le sucre avait disparu.

Dans des conditions analogues, et dans des milieux se composant d'eau de levûre additionnée de 10 à 15 % de dextrose, elles ont donné respectivement, après 15 jours, 6,5 et 8,3 vol. % d'alcool. Après 2 mois d'exposition à la température de 25° cent., la première culture renfermait 6,6 et la seconde 8,5 vol. % d'alcool. La fermentation était donc plus active dans les dissolutions de dextrose que dans celles de saccharose.

J'ai trouvé la seconde espèce nouvelle sur une montagne des bords du Rhin, dans la terre placée sous des ceps de vigne. La *fig.* 2 en représente les cellules, qui ont été cultivées dans les mêmes conditions que les précédentes.

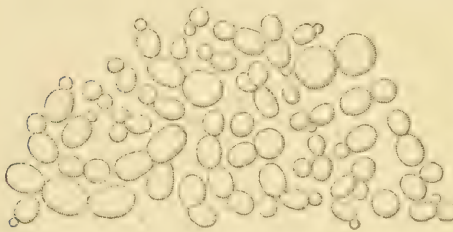


Fig. 2.

Elles ont, plus souvent que ces dernières, une forme ovale, et beaucoup d'entre elles sont notablement plus grandes.

Comme exemple de la formation des voiles chez les cellules de levûre des *Torula*, nous avons représenté, *fig.* 3, la végétation d'un voile de cette seconde espèce,



Fig. 3.

prélevé d'une culture dans le moût de bière vieille de 10 mois.

On voit que ces cellules, comparées avec celles de la *fig. 2*, sont souvent plus grandes, irrégulières et allongées en forme de boudin, caractères qui sont aussi ceux des voiles de même âge chez les Saccharomyces.

L'espèce dont il s'agit ne donne dans le moût de bière que 1 vol. % d'alcool. Elle ne produit aucune fermentation de la maltose, de la saccharose, qu'elle n'intervertit pas non plus.

Dans deux solutions de dextrose à 10 et 15 % dans l'eau de levûre, à 25° cent., elle a donné respectivement, après 15 jours, 4,6 et 4,5 vol. % d'alcool. Après un mois d'exposition, à la même température, la première solution renfermait 4,8 et la seconde 4,7 vol. % d'alcool. Deux autres cultures pareilles, qu'on avait laissé reposer beaucoup plus longtemps, renfermaient, celle de 10 % de dextrose, 4,8, et celle de 15 % de dextrose, 5,3 vol. % d'alcool ; un repos plus prolongé n'a fait faire aucun progrès à la fermentation.

Au point de vue physiologique, cette espèce se distingue donc de la précédente, non seulement par le manque d'invertine, mais aussi par la fermentation plus faible qu'elle produit dans les dissolutions de dextrose.

Très répandues dans la nature sont les formes de *Torula* qui ne produisent pas d'invertine, et qui ne donnent, dans les cultures pratiquées avec le moût de bière, que 1 vol. % d'alcool, et, par suite, ne font pas fermenter la maltose.

Nous passerons maintenant à l'examen d'une moisissure, que j'ai désignée sous le nom systématique de *Monilia candida.*

Monilia candida. — J'ai déjà eu l'occasion, en 1883, de publier, dans la *Revue Zymotechnique* de M. Fasbender, une notice sur cette espèce remarquable au point de vue physiologique. On la trouve dans la bouse fraîche de vache, et dans les fissures des fruits doux et juteux. Cultivée dans le moût de bière ou dans d'autres liquides nourriciers sucrés, comme par exemple des dissolutions de dextrose et de saccharose, avec addition d'eau de levûre, elle se développe

rapidement. A la température ordinaire d'un appartement, elle donne une végétation vigoureuse de cellules ressemblant à des saccharomyces, que l'examen microscopique montre fort voisines de forme du *Saccharomyces ellipsoïdeus* ou du *Sacch. cerevisiæ* de Reess (Voir *fig.* 4).

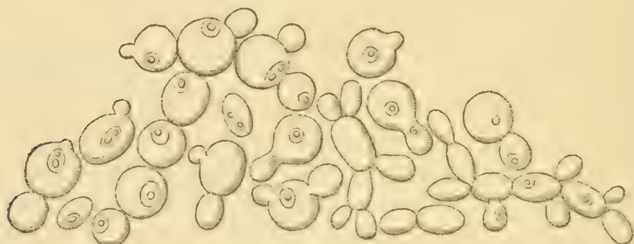


Fig. 4.

On observe très fréquemment dans cette espèce des vacuoles contenant chacune un ou deux petits corps très réfringents; ces petits corps se meuvent, en général, en oscillant d'un côté et d'autre.

Dans les liquides ci-dessus mentionnés cet organisme produit une fermentation alcoolique assez forte et, quand le dégagement d'acide carbonique est en pleine activité, et que les bulles d'écume montent à la surface, il forme déjà sur celles-ci un voile gris mat qui s'étend rapidement sur toute la surface et sur les parois du ballon qui renferme le liquide. La *fig.* 5 montre ces cellules pendant cette formation de voile. Les petits corps brillants mentionnés plus haut ne sont pas représentés dans cette figure, ni dans la suivante.

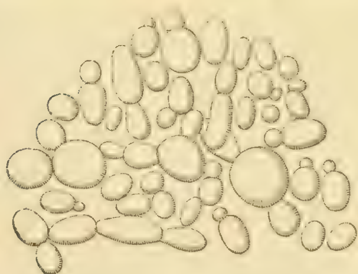


Fig. 5.

Laisse-t-on une pareille culture reposer pendant quelque temps, il se développe des cellules plus allongées et finalement un mycélium complet, et une végétation blanche, un peu duvetée de moisissure, qui produit des conidies de levûres, ou se divise en articles comme les Oïdiums *(Fig. 6).*



Fig. 6. Les formes représentées en *a* sont réquentes; elles se composent de chaines de cellules allongées, plus ou moins filiformes et assez faiblement unies entre elles; à chaque articulation on trouve ordinairement une couronne de cellules de levûre ovales qui tombent facilement. En *b* on voit une autre forme fréquente, mais qui se distingue de la précédente par l'absence des cellules disposées en couronne, lesquelles sont remplacées par une branche analogue à celle qui forme la tige mère, mais plus courte. Il n'est pas rare que les articles qui forment ces chaines soient étroitement unis entre eux. Dans beaucoup de cas, les étranglements disparaissent, et un mycélium tout à fait typique, avec des cloisons transversales distinctes, prend alors naissance, *c*. Les formes *b* et *c* se trouvent dans le *substratum* nourricier correspondant, *a* en général à la surface. Les formes comme *d* ressemblent beaucoup à l'*Oidium lactis*. En *e*, on voit une chaine de cellules pyriformes avec des couronnes de cellules de levûre qui ressemblent au *Sacch. exiguus*. La chaine de cellules en forme de citron, représentée en *f*, est identique au dessin de l'*Oidium fructigenum* publié par Ehrenberg (*De Mycetogenesi,* pl. X). Entre les formes principales ainsi décrites, se trouvent de nombreuses cellules de levûre de forme différente et en colonies diversement groupées. Comme d'ordinaire, il se produit aussi des formes semblables au *Sacch. conglomeratus*, Reess.

La même végétation s'est pareillement développée sur des *substrata*, nourriciers solides ; mais, bien que les cultures aient varié à un haut degré et aient été poursuivies pendant des années, elles sont restées identiques à elles-mêmes. Ces végétations sont, dans tous les cas, gris clair.

Dans sa végétation à l'état de moisissure, cette espèce se rattache assez étroitement, du moins dans quelques cas, à la description et au dessin que Bonordon a donnés de son *Monilia candida ;* c'est pourquoi j'ai choisi ce nom systématique pour mon espèce. Mais, ainsi que cela arrive trop souvent, lorsqu'il s'agit de descriptions de microorganismes faites par d'anciens auteurs, il est impossible de déterminer avec certitude quelle est l'espèce dont ils parlent. Les formes sous lesquelles se montre notre espèce sont, en outre, peu caractéristiques et communes à beaucoup de champignons, d'ailleurs différents entre eux. Il est donc facile de comprendre que, dans les herbiers de champignons, on trouve plusieurs espèces sous ce nom. On n'arrive pas non plus à résoudre la question d'une façon plus satisfaisante, en allant chercher ce champignon dans le bois pourri, lieu où Bonordon l'a trouvé.

Tandis que M. Plaut, dans un premier travail, supposait que son champignon trouvé dans le bois pourri était identique avec mon *Monilia,* des recherches ultérieures l'ont conduit à un résultat tout différent (1). Il est très vraisemblable que les auteurs qui, dans ces derniers temps, ont étudié des moisissures ressemblant au *Monilia,* ont opéré sur toute une série d'espèces différentes ; et, à ce sujet, nous devons de nouveau faire observer que l'examen morphologique ne nous met pas en état de les distinguer les unes des autres. Comme on va le voir, l'espèce dont je me suis occupé est nettement caractérisée par des propriétés physiologiques, et ce sont aussi celles-là sur lesquelles, pour le moment du moins, il faut particulièrement s'appuyer.

Dans les mêmes circonstances où le *Sacch. cerevisiæ* (levûre basse des brasseries) produit 6 vol. $^0/_0$ d'alcool, le

(1) Plaut : *Neue Beitrage zur systemat. Stellung des Soorpilzes in der Botanik,* Leipzig, 1887.

Monilia candida en donne à peine 1 $^1/_2$; mais laisse-t-on la fermentation continuer plus longtemps, la quantité d'alcool va en augmentant. Voici une des séries d'expériences que j'ai faites à cette occasion.

Trois ballons d'un litre à deux cols (modèle Pasteur) furent remplis aux $^3/_4$ de moût de bière stérilisé et infectés chacun avec 3 cent. cubes d'une levûre fluide assez épaisse de cellules jeunes et vigoureuses, qui, pour l'un des ballons, était de la levûre haute des brasseries, pour le second de la levûre basse des brasseries et, pour le troisième, de la levûre de *Monilia candida*. Il va sans dire que toutes les cultures étaient absolument pures, et le tout était disposé de manière que les ballons ne différassent entre eux que par le genre d'infection. Les expériences étaient faites à la température ordinaire d'un appartement.

Après 16 jours,	le ballon	avec	la levûre haute	donnait	6 vol. $^0/_0$
—	—	—	la levûre basse	—	6 vol. $^0/_0$
—	—	—	le *Monilia candida*	—	1,1 vol. $^0/_0$

Après 67 jours, les ballons avec les deux premières espèces de levûre renfermaient encore 6 vol. $^0/_0$ d'alcool, mais il y en avait 2 dans le troisième ballon. Les deux levûres des brasseries avaient donc déjà, au bout de 16 jours, produit leur effet maximum; cela fut aussi confirmé lorsque, après 4 mois, je procédai à un nouveau dosage.

A cette époque, le *Monilia candida* n'avait encore fourni que 3,4 vol. $^0/_0$.

Après	6 mois, il en	donna	5 vol. $^0/_0$.
—	9 mois $^1/_2$	—	6,5 vol. $^0/_0$.
—	26 mois	—	6,7 vol. $^0/_0$.

Ce fut le maximum, car les cellules étaient mortes lorsque je fis ce dernier dosage.

Il résulte, de ces recherches ainsi que d'autres analogues, que le *Monilia candida*, contrairement à ce qui a lieu en général chez les Saccharomyces, n'atteint que très lentement les fortes proportions pour cent d'alcool dans les conditions indiquées. Sous ce rapport, il se comporte comme plusieurs mucorinées.

La cause de cette fermentation lente provient en partie

de la température relativement basse à laquelle on a opéré; prend-on une température plus élevée, 25° cent., par exemple, le résultat est tout autre, la fermentation devient alors beaucoup plus active.

Il résulte donc de ces expériences que cette espèce doit être rangée avec celles qui font fermenter la maltose, ce qu'on peut d'ailleurs vérifier directement. Dans une dissolution de maltose à 5 % dans l'eau de levûre, le *Monilia candida* a déterminé au bout de quelques jours, à 20° cent., une fermentation active, et, après 42 jours, tout le sucre avait disparu, tandis que le liquide contenait 2,6 vol. % d'alcool. Par contre, une expérience faite de la même manière, mais avec une dissolution de maltose dans de l'eau pure, n'a donné aucun signe de fermentation, ni aucune des réactions de l'alcool; par conséquent il ne s'était pas produit de fermentation alcoolique. Le réfractomètre avait cependant accusé la disparition d'une petite portion de sucre, et le liquide présentait une réaction acide; je suis donc disposé à croire que la maltose disparue a exclusivement servi à la multiplication et à l'alimentation des cellules. Après avoir ensuite ajouté un peu d'eau de levûre, et placé le ballon dans le thermostat à 25° cent., il se produisit une assez forte fermentation qui transforma tout le sucre. Le liquide donnait aussi alors nettement les réactions de l'alcool.

Il semble donc que le *Monilia candida* peut bien se multiplier dans une solution aqueuse pure de maltose, mais non y déterminer une fermentation tant qu'on ne lui fournit pas les matières azotées et les sels nutritifs nécessaires. Une fermentation de maltose demande aux cellules un travail plus grand qu'une fermentation de glucose, et, par suite, elles doivent, dans le premier cas, avoir une alimentation meilleure que dans le second. Comme on se le rappelle, il y a quelques années que fut souvent agitée la question de savoir si la maltose était ou non fermentescible. Le *Monilia candida* nous fournit une nouvelle contribution à la solution du problème, car nous avons dans cet organisme une levûre qui, bien que privée de ferments inversifs, peut cependant produire dans les dissolutions de maltose une fermentation assez active quoique lente.

Il suit de là qu'une transformation préalable de ce sucre en dextrose n'est pas en tout cas nécessaire pour subir une fermentation alcoolique.

Nous voici arrivé au caractère le plus intéressant de cette levûre alcoolique. Bien qu'elle soit, comme il a été dit plus haut, privée du ferment soluble d'invertine, elle fait cependant fermenter la saccharose. Jusqu'ici, en effet, la saccharose, dans la chimie et la physiologie moderne, a été rapportée aux espèces de sucre qui ne sont pas directement fermentescibles.

Les expériences que j'ai entreprises à ce sujet ont été faites dans des ballons à deux cols avec des solutions stérilisées de sucre de canne à 10 et 15 $^0/_0$, avec ou sans addition de combinaisons azotées et de sels nourriciers. Dans le dernier cas, la fermentation était accompagnée de peu d'écume, tandis que, dans le premier, il s'en produisait une grande quantité. Dans différentes phases de la fermentation, on a prélevé des échantillons du liquide pour les analyser, et on a toujours constaté que le sucre restant était de la saccharose; il n'y avait pas la moindre trace de sucre interverti, et on n'a pas non plus trouvé de l'invertine dans l'extrait de levûre, dans l'eau et la glycérine. Nous possédons donc réellement une levûre alcoolique qui est en état de faire fermenter la saccharose sans inversion préalable, d'où l'on déduit que, dans certaines circonstances, ce sucre est directement fermentescible.

Parmi les expériences faites à différentes époques pour résoudre cette question, nous citerons les suivantes.

Un ballon à deux cols, renfermant une dissolution à 10 $^0/_0$, a été largement infecté avec une levûre de *Monilia* imbibée d'un peu du liquide nourricier où elle avait pris naissance :

Après	20 jours,	il s'était	formé	0,7	vol. $^0/_0$	d'alcool.
—	2 mois	—	—	1,35	—	—
—	4 —	—	—	2,25	—	—
—	6 —	—	—	3	—	—
—	8 —	—	—	3,7	—	—
—	12 —	—	—	4,5	—	—
—	27 —	—	—	4,9	—	—

Le liquide en fermentation a été essayé avec du papier de tournesol, avec le réactif de Fehling, le polarimètre, après avoir reposé 20 jours, et 8, 12 et 27 mois. Il avait toujours une réaction acide, sans être réducteur; par contre, le chauffait-on avec de l'acide chlorhydrique faible, il se produisait un précipité abondant de protoxyde de cuivre rouge, et il tournait constamment à droite le plan de polarisation. De là, on doit conclure qu'il restait toujours de la saccharose, et que l'acide formé pendant la fermentation n'a pu l'intervertir. Les cellules vieilles de 27 mois étaient encore vivantes quand on les a essayées.

Dans une autre expérience, on s'est servi d'une dissolution de sucre de canne à 15 %; et les cellules de levûre qu'on y a mêlées ont été, au préalable, lavées soigneusement avec de l'eau stérilisée, pour les débarrasser de toute trace de liquide nutritif.

Après 4 mois,	on a trouvé	1,1	vol. %	d'alcool.
— 12 —	—	2,7	—	—
— 16 —	—	2,8	—	—

On s'est également assuré, dans ce cas, qu'aucune inversion n'a eu lieu pendant toute la durée de l'expérience, qui, de même que la précédente, a été faite à la température ordinaire d'un appartement.

Lorsque le *Monilia candida* est cultivé pendant longtemps à de hautes températures, par exemple aux environs de 40° cent., il a une grande tendance, surtout en cas d'alimentation insuffisante, à produire une abondante formation d'acide. Y a-t-il alors de la saccharose dans le liquide, il pourra en être interverti une partie plus ou moins grande, mais cela n'a rien de commun avec une sécrétion d'invertine.

Les liquides dont on s'est servi dans les expériences de fermentation ci-dessus mentionnées, ont, de temps à autre, été soumis à des recherches ayant un but différent. Il a ainsi été constaté que le gaz qui se dégageait pendant la fermentation était de l'acide carbonique, et que le produit de la distillation donnait toujours les réactions de l'alcool éthylique. A l'état anhydre, son indice de réfraction était

1,361, son point d'ébullition 79° cent., et sa densité à 17°,5 cent., 0,795.

Le *Monilia candida* se distingue de plusieurs autres levûres alcooliques par sa facilité à supporter l'action de hautes températures. Dans le moût de bière, et dans un mélange de sucre de canne et d'eau de levûre, il s'est, par exemple, vigoureusement développé à 40° c., en déterminant une fermentation active. Bien qu'il forme très facilement des voiles, il ne peut cependant se développer dans les liquides spiritueux, comme le *Mycod. cerevisiæ*; semé dans de la bière à fermentation basse, il n'a jamais, en effet, donné de voile complet; de plus, son développement a été faible.

Résultats. — Nous voici arrivé à la fin de ce groupe de microorganismes ressemblant aux Saccharomyces, mais dépourvus d'endospores. Il n'existe qu'un petit nombre de ces espèces dont la puissance fermentative puisse être mise de pair avec celle des vrais Saccharomyces, et aucune s'il s'agit de faire fermenter la maltose. Parmi les 10 espèces qui ont été examinées, une seule, le *Monilia candida,* s'est montrée, en effet, capable de faire fermenter les solutions de ce sucre. Il est également chose vulgaire de rencontrer dans ce groupe des espèces complètement incapables de provoquer la fermentation alcoolique; il en est tout autrement des Saccharomyces; parmi eux, nous n'avons trouvé qu'une seule espèce, le *Sacch. membranæfaciens,* qui ne fût pas doué de cette faculté, et, dans le vaste groupe des autres, qu'un petit nombre, le *Sacch. Marxianus,* le *Sacch. exiguus* et quelques autres, qui ne fissent pas fermenter la maltose.

Tandis que, dans ce dernier genre riche en espèces, l'absence de la faculté de provoquer la fermentation alcoolique est accompagnée du manque d'invertine, fait uniquement observé chez le *Sacch. membranæfaciens,* il est, au contraire, fréquent, parmi les microorganismes examinés ici, de rencontrer des espèces qui n'ont pas d'invertine et qui, néanmoins, produisent la fermentation alcoolique. De ce nombre, le *Monilia candida* est cependant la seule qui puisse faire fermenter la saccharose comme telle, et c'est

là l'observation la plus remarquable que nous ayons faite. Si nous considérons les deux fonctions, la sécrétion d'invertine et la fermentation, nous voyons que toutes les combinaisons possibles se montrent dans cette section : il y a des espèces chez lesquelles ces deux fonctions font défaut, d'autres espèces chez lesquelles on les trouve toutes deux réunies, et enfin des espèces chez lesquelles l'une d'elles est absente.

Tandis que la plupart des Saccharomyces jouent un grand rôle dans l'industrie, ce groupe de pseudo-Saccharomyces a, sous ce rapport, très peu d'importance.

Les nombreuses espèces douées d'un faible pouvoir fermentatif ne peuvent guère, dans ces circonstances, être prises en considération; or, comme on n'en connaît qu'une seule, le *Monilia candida,* qui fasse fermenter la maltose, cela encore sans grande énergie, il faut les regarder comme étant sans importance pratique dans l'exploitation des brasseries et des distilleries. Des grands bacs refroidisseurs découverts des brasseries elles passent journellement avec le moût dans les cuves à fermentation, et peuvent à la longue s'y trouver en quantité notable, mais on n'a constaté de leur part aucune action nuisible.

Comme toutes les levûres alcooliques examinées jusqu'ici, les espèces douées d'un pouvoir fermentatif attaquent avec facilité les dissolutions de dextrose et de sucre interverti; il est donc très vraisemblable que quelques-unes, du moins, prennent une part plus ou moins active dans la fermentation des raisins et d'autres fruits.

Dans ce groupe, on a encore trouvé, en plus grand nombre que dans le précédent, des exemples de ce fait, que des espèces qui, au point de vue morphologique, ne peuvent être distinguées les unes des autres, se montrent cependant très différentes dans leur action sur les sucres, et peuvent par là être nettement caractérisées.

Toutes ces espèces développent des végétations de cellules de levûre; il n'en existe qu'un petit nombre qui se comportent en même temps comme des moisissures, et produisent un mycélium complet.

(A suivre.)

DU CONTRASTE PHOTOMICROGRAPHIQUE

PAR

Le Dr E. C. BOUSFIELD, L. R. C. P.

Parmi les difficultés de la science photomicrographique, on doit mettre au premier rang celles dont nous allons parler. Les objets sans couleur, et d'une épaisseur moyenne, telles que les grandes diatomées ou les coupes transversales des tiges, des branches des plantes, des os, des épines d'échinides et d'autres objets analogues, qu'on peut désirer photographier, ne présentent en général aucune difficulté.

Pour que l'expérimentateur réussisse à obtenir comme résultat de son travail un cliché harmonieux et assez intense pour donner une épreuve positive, dont le fond reste tout à fait blanc quand l'image s'y trouve suffisamment imprimée, il suffit : qu'il soit maître de l'art d'éclairer la préparation, surtout à l'aide du condensateur appelé *œil de bœuf,* de façon à projeter sur la glace dépolie une image également illuminée dans tous ses points; qu'il juge avec soin du temps de pose, et qu'il apporte toute son attention à la mise au point.

Les avantages qu'on tire, avec toute combinaison optique, d'une distance focale de moins de 25 m/m, avec un condensateur pareil à celui de Abbe, placé sous la platine du microscope, sont énormes; mais on peut, avec le secours seul de *l'œil de bœuf*, quand on s'en sert de la meilleure façon, produire de très beaux effets, pourvu que l'étendue angulaire du cône des rayons que peut recevoir ou employer l'objectif (ce qui n'est pas du tout la même chose), ne dépasse pas une limite de 30°. En se servant d'un tel condensateur, on obtient une concentration non-seulement de l'éclairage, mais aussi de cette lumière *mise au point* sur la préparation elle-même, et qui se trouve alors au foyer conjugué du condensateur et de l'objectif. Comme

on peut le constater, ces conditions sont les plus favorables à la résolution des détails les plus minutieux. Pour les objets d'une moindre finesse et d'une épaisseur moyenne, le contraste ainsi obtenu laisse peu à désirer. Avec les objets très clairs et très minces, il en est tout autrement, même pour l'observation directe. Les rayons, d'une obliquité plus que suffisante pour la définition des détails de l'objet, ont pour effet de voiler l'image, de lui donner une apparence laineuse bien différente de la netteté que doit posséder une bonne image photomicrographique. Si cet excédent d'obliquité au-delà de la capacité de l'objectif, ou des besoins de l'objet, constitue un défaut dans l'observation directe, ce défaut s'accroît considérablement dans les photomicrographies. Le cliché qu'on obtiendra d'une image semblable ne vaudra rien, chacun de ses défauts s'y trouvera exagéré, et, en augmentant son intensité pour le tirage, on s'enlèvera la faculté de l'imprimer.

La quantité de lumière que reçoit l'objectif n'entre presque pour rien dans le contraste. En effet, on peut se servir indifféremment de la lumière concentrée du soleil ou d'une petite lampe, avec un temps de pose évidemment proportionnel, à la condition cependant de ne pas s'écarter d'une règle dont la connaissance est de la plus grande importance pour le photomicrographe, à savoir : *que l'angle du cône des rayons qu'on emploie ne doit pas dépasser la limite nécessaire à résoudre les détails qu'on désire photographier*. Si on ajoute à cette remarque que les rayons qui impriment l'image sur la plaque sensible ont un pouvoir définissant supérieur à ceux à l'aide desquels on perçoit l'objet, on conçoit aisément que le cliché ne souffrira pas de la réduction du cône à l'angle dont nous venons de parler; au contraire, cette diminution permettra justement d'obtenir le contraste nécessaire à une bonne épreuve positive.

Pour les objets qui présentent un grand contraste dans leur structure, comme par exemple les insectes, dont les anneaux du corps sont d'un brun-foncé, les membranes qui les réunissent d'un jaune clair, et les ailes presque incolores, les difficultés du contraste sont d'un autre genre.

Dans le cas des objets très minces et sans couleur, nous n'étions en présence d'aucun contraste; maintenant, nous voici en face d'un contraste si prononcé que le temps de pose suffisant pour les ailes donne à peine le contour du corps de l'insecte dessiné sur le fond noir du cliché. En donnant assez de temps pour imprimer les détails de ce dernier, les ailes se trouveront tout à fait brûlées sur le cliché, avec le fond duquel elles seront confondues. Il en est de même des épreuves obtenues avec beaucoup d'autres préparations, telles que coupes de roches, etc., ... alors même qu'elles ne sont pas colorées.

Comment vaincre les difficultés de ce genre?

Si on examine, à l'aide du spectroscope, le corps d'un insecte, on voit qu'il présente un obstacle infranchissable au passage de tous les rayons d'une réfrangibilité plus forte que l'extrême jaune ou la première partie de l'orangé, tandis que les ailes laissent passer indifféremment tous les rayons. C'est ici que se trouve la clef du problème; tous ces rayons, même l'orangé, sont capables d'imprimer une image sur la couche sensible d'une plaque ordinaire, et en employant, au-dessous de l'objet ou du condensateur, un écran d'une teinte appropriée, on peut non-seulement réduire, mais encore *détruire* l'excédent du contraste, de sorte que l'image des anneaux s'imprimera aussi vite que l'image des ailes. En guise d'écran, on peut se servir, ou d'un verre coloré, ou d'un vase à côtés parallèles et transparents, dans lequel on verse une dissolution de bichromate de potasse; cette dernière solution a l'avantage d'être bien déterminée, et de pouvoir être facilement augmentée ou diminuée en intensité par l'addition d'une plus ou moins grande quantité de chromate ou d'eau, selon que le cas l'exige. Avec les plaques ordinaires, le temps de pose est très long, même avec une puissante source de lumière. On peut l'abréger par l'emploi des plaques isochromatiques de MM. Attout Taillefer et Clayton, ou en préparant soi-même des plaques semblables. Pour cela, il suffit simplement de tremper les plaques ordinaires dans une solution à 1 pour 1000 dans l'alcool concentré d'une des couleurs d'aniline suivantes : éosine, érythrosine ou cyanine. Dans les cas ordinaires, nous préférons l'érythrosine. On peut se

servir immédiatement des plaques ainsi colorées, puisqu'elles sèchent rapidement. Quand on a le temps de préparer à l'avance les plaques isochromatiques, il sera préférable de les tremper pendant deux minutes dans le bain suivant :

Solution colorée ($^1/_5$ $^0/_0$)	1 partie
Ammoniaque à 10 $^0/_0$	1 —
Eau distillée	8 —

puis on laisse sécher dans l'obscurité parfaite.

Les préparations colorées, telles que les coupes des tissus à l'état physiologique ou pathologique, exigent à peu près le même traitement. Nous nous servions autrefois d'écrans de verre à couleurs variées, maintenant nous préférons employer uniquement le jaune. Les objets de couleur violette ou bleue, ou ceux qui n'offrent aucun contraste actinique doivent être traités comme les corps non colorés, c'est-à-dire qu'on doit chercher à obtenir le contraste désiré en réduisant l'angle du cône des rayons.

Il nous reste à ajouter que ces procédés sont singulièrement facilités par l'emploi de solutions dont on connaît le pouvoir absorbant pour les rayons actiniques; dans ce but il convient de pratiquer quelques essais à l'aide du sensitomètre étalon de Warnerke, dont nous avons déjà indiqué le mode d'emploi avec tous les détails nécessaires, dans une brochure anglaise : *Guide to the science of photomicrography.*

PRÉPARATION

DE QUELQUES MILIEUX NUTRITIFS

destinés à l'étude des bactéries

PAR

L. BENOIST

Les liquides et les *substrata* solides, utilisés pour la recherche ou la culture des bactéries, sont très nombreux et variables de composition. Cette différence de constitution est nécessaire dans certains cas particuliers et pour des cultures spéciales; mais, pour des recherches générales, comme par exemple l'analyse quantitative des microbes de l'air, des eaux et du sol, il serait à souhaiter que les observateurs adoptassent des milieux nutritifs identiques, ce qui permettrait la comparaison des résultats obtenus.

La résistance à la température de stérilisation, une extrême sensibilité, une limpidité parfaite, qui permette à l'opérateur de suivre avec facilité les différents développements de schizophytes, telles sont les qualités qu'on doit demander à une liqueur ou à une gelée de culture.

De prime abord, la fabrication de ces divers milieux peut sembler facile: elle peut offrir néanmoins quelques difficultés à celui qui n'est pas initié à toute la série des manipulations et des détails que nous allons décrire.

Bouillon de bœuf. — Pour 4 litres d'eau, on prendra un ou deux kilogrammes de chair musculaire maigre de bœuf, le bouillon sera écumé dès le début de l'ébullition, et le liquide maintenu pendant environ 5 heures à 100° centigrades. Le bouillon, ainsi obtenu, sera placé dans un lieu frais jusqu'au lendemain. Après refroidissement, la graisse qui surnage à la surface du liquide devra être soigneusement enlevée; et, pour qu'il ne reste aucune particule graisseuse, on passera la liqueur au travers d'un linge fin préalablement humecté. On ramène alors au volume primitif, et l'on neutralise avec une solution de soude caustique à $^1/_{10}$ (3^{cc} de cette solution alcaline ont toujours suffi pour la saturation des acides fournis par un kilogramme de viande).

Le bouillon neutralisé est de nouveau porté à l'ébulli-

tion pendant 10 minutes; on filtre, puis on ajoute par 1.000^{cmc} de liquide filtré 10 grammes de chlorure de sodium. Le chlorure de sodium, à cette dose, augmente notablement la sensibilité du bouillon (1); l'adjonction du chlorure de sodium pendant la neutralisation, et avant la filtration, empêche une partie du précipité produit par la soude de s'effectuer; et, lorsque l'on porte le liquide à la température stérilisante, il se trouble et ne peut plus être clarifié, même par de nombreuses filtrations.

La fabrication de ce bouillon demande, comme on le voit, un temps assez considérable; il peut être remplacé avantageusement par un bouillon artificiel dont voici la composition :

Eau....................	1.000
Peptone Chapoteau.....	20
Gélatine...............	2
Cendre de bois.........	0,25
Chlorure de sodium....	5

Le tout, hors la gélatine, est amené et maintenu à l'ébullition pendant quelques minutes; quand la peptone paraît bien dissoute, on filtre, et on ajoute 20^{cmc} d'une gelée à la gélatine à 10 % clarifiée au préalable. Le liquide ainsi obtenu est neutre, d'une limpidité parfaite, il possède une sensibilité équivalente et même légèrement supérieure à celle du bouillon de bœuf; de plus, sa composition est invariable si la peptone employée est identique. Il ne convient pas de dépasser la dose de 0^{gr} 25 de cendre de bois, sous peine d'obtenir une liqueur trop alcaline et par conséquent moins apte à la culture des bactéries.

Gélatine nutritive. — La gélatine est d'un emploi presque général pour la confection des milieux de cultures solides; la clarification de cette gelée par filtration est longue et pénible, elle demande des entonnoirs chauffés, des papiers spéciaux, et, bien que certains auteurs la préconisent (2), elle est défectueuse et impraticable dans un laboratoire qui consomme quotidiennement pour ses analyses un grand nombre de conserves.

Il est facile, avec l'albumine d'œuf, d'obtenir dans

(1) Miquel. *Organismes vivants de l'atmosphère*, page 152. Gauthier-Villars, éditeur, 1883.

(2) Cornil et Babes. *Les Bactéries*, page 95. Alcan, éditeur, Paris, 1886.

certaines conditions, et du premier coup, une gelée absolument limpide, quelle que soit la proportion de gélatine employée, qui, d'ailleurs, dépasse rarement 10 % du poids de l'eau.

Voici une des formules les plus recommandables :

Eau......................	1.000
Gélatine Coignet, n° I.....	100
Peptone Chapoteau.......	20
Chlorure de sodium.......	5

Il est préférable de se servir de la gélatine Coignet, n° I, plutôt que des autres produits similaires qui ne la valent pas, quoique d'un prix plus élevé ; en effet, la plupart des gélatines du commerce sont fortement acides, ce qui est l'indice certain d'un commencement d'altération pendant le cours de la fabrication.

La capsule choisie pour effectuer la dissolution de la gélatine devra être en cuivre étamé à l'étain pur ou argenté et non en porcelaine, cette dernière présentant le grave défaut de brûler à l'endroit du coup de feu, ce qui colore la gelée et produit souvent des bris qui réduisent à néant le résultat de la préparation.

L'eau portée à l'ébullition recevra la peptone et le chlorure de sodium ; la capsule sera ensuite retirée du feu, et l'on ajoutera par fragments la gélatine, en agitant de temps en temps jusqu'à dissolution complète. La neutralisation du mélange s'effectue, comme pour le bouillon de bœuf, à l'aide d'une dissolution de soude caustique à $^1/_{10}$; 100 grammes de gélatine Coignet ne demandent que un centimètre cube de la solution caustique. Il convient de laisser à la gelée une réaction acide à peine sensible, de préférence à une réaction alcaline qui entrave la coagulation de l'albumine et, par conséquent, la clarification, et fournit un produit opalescent doué d'une fluorescence verdâtre. *Deux* blancs d'œufs frais, dissous à part dans 100^{cmc} d'eau, sont alors introduits dans l'émulsion, lorsque celle-ci est descendue à une température voisine de 60° centigrades; le mélange est agité fortement, puis replacé sur le feu. On continue à remuer avec une baguette de verre, en élevant doucement et progressivement la température jusqu'à 100° centigrades ; après deux ou trois bouillons, on éteint le feu. L'albumine se sépare du liquide qui apparaît limpide et se rassemble en gros

flocons, dont la plupart montent à la surface et peuvent être enlevés à l'aide d'une écumoire.

Pour obtenir une séparation parfaite de l'albumine et de la gélatine, il suffit de verser le liquide encore chaud dans un entonnoir portant à la partie évasée une toile fine de coton, et muni à son étranglement d'une bourre de ouate hydrophile. Le premier passage sur la toile arrête presque toutes les particules d'albumine dont le tampon de coton retient les dernières traces. La filtration d'un litre de gélatine demande, par ce procédé, quelques minutes. La gelée, ainsi obtenue, est d'une transparence parfaite.

Gélose nutritive. — La clarification de la gélose peut se faire de la même façon, mais la gélose, pour être dissoute, demande à être maintenue à l'ébullition pendant un temps assez long ; après dissolution, comme elle possède une légère réaction alcaline, il est indispensable de la rendre acide à l'aide d'une solution d'acide tartrique ; on neutralise par la soude après clarification au blanc d'œuf.

Il existe pour la gélose un autre procédé de préparation, dont M. E. de Freudenreich est l'auteur (1) ; il consiste à placer dans un filtre de papier la dissolution de gélose convenablement peptonisée, le filtre est ensuite introduit dans un autoclave et porté à la température de 110°, pendant une heure et demie : ce laps de temps est nécessaire pour la filtration d'un litre de gélose. Ce moyen, très pratique et expéditif, ne peut guère s'appliquer qu'à la gélose, il ne conviendrait pas à la gélatine qui supporte mal la température prolongée de 110°.

Par les deux modes opératoires, on obtient également des liquides d'une limpidité irréprochable, mais, disons-le tout de suite, fugitive, car, en se coagulant, les dissolutions de gélose reprennent leur opalescence, ce qui est évidemment dû à un changement dans l'état moléculaire de cette substance qu'il est je crois possible de modifier. Des essais en cours d'exécution me font prévoir qu'il sera permis, dans un avenir prochain, d'obtenir des gelées solides d'Agar, aussi claires et aussi parfaites que celles qu'on obtient avec la gélatine.

---

(1) E. de Freudenreich. *Zur Bereitung des agar-agar.* (*Centralb. für Bak. und Parasit.* III Band., p. 797, Verlag von G. Fischer in jena, 1888).

REVUES ET ANALYSES

Dr Maximilien Meissner. — **Contributions à la physiologie de la nutrition chez les Protozoaires** (*Zeitschr. für Wiss. Zoolog.*, Bd. XLVI, 4 Heft., p. 498-516. Taf. XXXIV und 1 Holzchn).

Le Dr Meissner a étudié la manière dont se comportent certaines substances alimentaires introduites dans le protoplasma des Rhizopodes et des Infusoires. Il a expérimenté l'amidon, l'huile et les substances albumineuses. Ses sujets d'études étaient parmi les Rhizopodes : *Amœba princeps, A. radiosa, Pelomyxa palustris;* parmi les Héliozoaires : *Actinophrys sol;* parmi les Infusoires : *Climacostomum virens, Vorticella nebulifera, Peranema trichophorum.*

Chez les Rhizopodes, ni l'amidon, ni les gouttelettes d'huile ne subissent de modifications, quel que soit le temps pendant lequel on observe l'organisme qui les renferme. Par contre, les matières albumineuses animales ou végétales se transforment très souvent.

Chez les Infusoires, les grains d'amidon se transforment en une substance qui rougit sous l'influence de l'Iode (Dextrine ?) et disparaît par absorption. Les gouttelettes d'huile demeurent au contraire inaltérées. Les matières albumineuses animales ou végétales sont facilement absorbées; mais, lorsqu'on les soumet d'abord à la cuisson, elles paraissent ne plus pouvoir être assimilées par les infusoires.

Nous analysons avec d'autant plus de plaisir le travail du Dr Meissner que ses recherches corroborent absolument celles que nous avons faites sur le même sujet et publiées dans les *Annales des Sciences naturelles,* au commencement de cette année (Fabre-Domergue. — Recherches anatomiques et physiologiques sur les Infusoires ciliés, *Ann. Sc. nat.,* Fasc. I, 1888. Thèse datée du 27 juillet 1887). Dans ce travail, nous concluons à la transformation de l'amidon en erythrodextrine et à l'inaltérabilité des globules graisseux (lait) par les sucs protoplasmiques des Infusoires (Paramœcies).

F. D.

C. de Bruyne. — **Contributions à l'étude de la Vacuole pulsatile.** (*Bulletin de l'Acad. roy. de Belgique,* 3me série, t. XV, n° 5, 1888, 1 pl.).

L'auteur étudie le fonctionnement et le rôle de la Vacuole pulsatile sur un kyste indéterminé d'infusoire d'eau douce. Nous transcrivons ici littéralement ses conclusions :

« Dans l'organisme enkysté que je compte déterminer dans » la suite. »

« *(a)* La vacuole pulsatile n'a pas de communication avec » l'extérieur. »

« *(b)* Ce n'est pas un organe excréteur. »

« *(c)* C'est probablement un organe respiratoire et circula- » toire. »

« *(d)* Peut-être aussi son contenu a-t-il la valeur d'un liquide » nourricier. »

F. D.

Max Verworn. — **Etudes biologiques** (*Zeitschr. für Wiss. Zoolog.*, XLVI Band, 4 Heft., p. 455-470, Taf. XXXII und 3 Holzschnitten, 1888).

L'auteur étudie le processus de régénération de la coquille des rhizopodes monothalames et polythalames, en particulier de la *Difflugia urceolata* et de la *Polystomella crispa.* Il a observé que chez le premier de ces organismes la puissance de régénération est nulle, tandis que, chez le second, quelques chambres séparées des autres, et contenant des noyaux, reconstruisent un animal entier. D'après lui, la puissance de régénération serait en rapport avec le nombre de chambres formant l'individu adulte.

Pour l'étude de la reconstruction des chambres des *Difflugia,* l'auteur s'est servi de verre noir finement pulvérisé et a fait à ce propos une intéressante remarque, c'est que les pseudopodes, qui touchent sans les englober les fragments qui les entourent, les happent vivement au contraire quand l'organisme est soumis à une excitation.

F. D.

B. Grassi und W. Schewiakoff. — **Contribution à la connaissance du Megastoma entericum** (*Zeitschr. für Wiss. Zoolog.*, XLVI Band, 2 Heft, p. 143-154, Taf. XV, 1888).

Le *Megastoma entericum,* étudié par plusieurs auteurs, est un petit infusoire flagellé qui vit en parasite dans l'intestin de l'homme

et de quelques espèces de Mus et d'Arvicola. Quand il se multiplie en trop grande abondance, il peut provoquer la diarrhée et l'anémie. En voici la diagnose résumée d'après le travail des Drs Grassi et Schewiakoff.

Longueur 0,01-0,016 m. m., largeur 0,005-0,0075 m. m. Protoplasma hyalin, finement granuleux; corps en forme de massue ou de poire avec une dépression latérale antérieure, par laquelle l'animal se fixe aux cellules épithéliales de l'intestin; 4 cils au bord postérieur de cette dépression, 2 au bord antérieur, 2 à l'extrémité postérieure effilée du corps. Noyau situé antérieurement, en forme d'haltère. Pas de bouche.

Dans la partie terminale du tube digestif on trouve peu d'individus libres, mais beaucoup de kystes. Chez les sujets diarrhéiques, on trouve cependant dans les selles beaucoup de *megastoma* non enkystés.

Les auteurs n'ont point observé la multiplication par division.

F. D.

Dr AUGUST GRUBER. — **Uebe einige Rhizopoden aus dem Genueser Hafen** (*Berichten der Naturforschenden Gesellschaft zu Freiburg*, i, B, Bd. IV, 1888, Seit. 33-44, Taf. 1).

L'auteur ajoute à la description des espèces, précédemment étudiées par lui dans son grand travail sur les Protozoaires du golfe de Gênes, les espèces suivantes : *Protomyxa pallida*, n. sp. Diverses amibes : *Schultzia diffluens*, Schultze, *Lieberkühnia Bütschlii*, n. sp., *Polymastix sol*, Gruber.

F. D.

MAUPAS. — **Sur la conjugaison des Vorticelles.**
(*C. R. Acad. des Sc.* juin 1888).

M. Maupas, continuant ses recherches sur la conjugaison des Vorticelles, conclut que chez ces ciliés la conjugaison par gamètes ne diffère pas par ses points essentiels de la conjugaison des autres ciliés.

F. D.

EMILE BOVIER-LAPIERRE. — **Nouvelles observations sur les Péridiniens appartenant au genre Polykrikos** (*C. R. de la Soc. de Biologie*, 30 juin 1888).

L'auteur signale la reproduction par bourgeonnement des Polykrikos, ainsi que la présence, dans ces êtres, d'enclaves qu'il a pu déterminer comme des œufs de crustacés copépodes.

F. D.

Élie Metschnikoff. — **Du rôle phagocytaire des cellules géantes dans la tuberculose** (*Virchow's Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie,* t. CXIII, 1, p. 63).

On sait le rôle que jouent, d'après M. Metschnikoff, les cellules de l'organisme contre l'invasion des microbes, et comment ce savant, après avoir fondé sa théorie des phagocytes, — c'est le nom général qu'il donne aux cellules amiboïdes chargées de la défense de l'organisme — sur l'observation des daphnies et de leur parasite, le *Monospora biscupidata,* a cherché à la confirmer par ses expériences subséquentes sur le charbon, l'érysipèle et la fièvre récurrente. Comme toutes les idées neuves et fructueuses cette théorie a trouvé des adeptes enthousiastes et d'ardents détracteurs, et l'accord est encore loin d'être établi sur la valeur de cette hypothèse. En attendant, M. Metschnikoff ne se lasse pas d'apporter tous les jours de nouveaux faits à l'appui de sa théorie, et, dans le présent mémoire, il aborde la question du rôle des phagocytes dans la tuberculose, un des chapitres précisément que ses adversaires ont le plus exploité contre lui, et cherche à démontrer qu'ici aussi ses idées trouvent un appui dans les faits.

Le point de départ du travail de M. Metschnikoff est le fait, remarqué par Koch le premier, que l'on trouve quelquefois dans les cellules géantes des bacilles qui ne se colorent pas avec autant d'intensité que ceux contenus dans des cellules géantes avoisinantes, et, dans ses premiers travaux déjà, M. Metschnikoff avait émis l'hypothèse que les cellules géantes pourraient bien jouer là le rôle de phagocytes. M. Baumgarten, au contraire, n'a jamais remarqué chez les bacilles enfermés dans les cellules géantes de métamorphoses régressives, aussi se fonde-t-il en particulier sur le résultat de ses observations pour attaquer la théorie des phagocytes. Ces observations contradictoires demandaient donc à être reprises.

Le travail de M. Metschnikoff contient d'abord quelques données intéressantes sur la morphologie des bacilles de la tuberculose ; car, avant d'étudier le combat des cellules contre leurs agresseurs, il importe de connaître exactement ceux-ci. M. Metschnikoff a souvent vu, en particulier dans les crachats de phthisiques et dans la rate de moineaux tuberculeux, le bacille de Koch sous forme de longs filaments. Il en conclut que la forme bacillaire n'est pas l'état définitif du parasite, et qu'elle ne représente qu'une période de l'évolution d'une bactérie filamenteuse. Dans les cultures, les formes varient davantage ; souvent le bacille prend une forme

ovalaire ou en lancette. Dans de vieilles cultures, MM. Roux et Nocard avaient déjà observé des formes renflées plus longues qu'à l'ordinaire, portant un bourgeon latéral. M. Metschnikoff a obtenu des formes pareilles avec un abondant développement de bourgeons multiples en cultivant le bacille pendant 20 jours à 43°. Bien que ce soient là, sans aucun doute, des formes d'un aspect insolite, M. Metschnikoff ne croit pas que l'on doive les considérer comme un stade de dégénération. Elles se produisent, il est vrai, surtout quand le bacille est cultivé dans des conditions défavorables; mais la formation des périthèces du *Pénicillium glaucum*, par exemple, a lieu dans des circonstances analogues, et un certain nombre de ces formes peut donc très bien, ainsi que Hansen et d'autres l'ont admis, appartenir au cycle évolutif normal des bactéries. Les espaces incolores que l'on voit quelquefois ne seraient pas des spores selon M. Metschnikoff, car, même après une cuisson prolongée, ils ne se colorent pas, ce qui d'habitude est le cas pour les spores. Celles-ci seraient plutôt de petits corps ronds, à contours très nets, et se colorant plus fortement que le reste du protoplasme, qui se rencontrent fréquemment, surtout dans les cultures. Elles se distinguent facilement des granulations, également susceptibles de coloration, qui se trouvent entre les espaces incolores susmentionnés et que quelques auteurs considèrent à tort comme une forme en micrococcus du parasite (Lutz Heidenreich).

Les défenseurs principaux, mais non pas les seuls, de l'organisme dans sa lutte contre le bacille de la tuberculose, sont les cellules géantes. Pour bien mettre en évidence les différentes phases de la lutte, il faut avoir recours à une bonne méthode de coloration. Voici celle qui a donné les meilleurs résultats à l'auteur, et qui est due à M. le Dr Kühne de Wiesbaden. Les coupes sont plongées d'abord dans une forte solution d'hématoxyline ou dans une solution plus faible d'extrait de campêche préparée avec de l'alun d'après le procédé de Klein. On débarrasse les coupes de l'excès de couleur en les laissant plus ou moins longtemps dans l'eau et on enlève l'eau par l'alcool absolu. Les coupes, colorées en bleu-violet, sont alors mises pendant 2 heures dans une solution de fuchsine (solution alcoolique concentrée de fuchsine ajoutée à un mélange à parties égales d'une solution à 1 °/₀ de carbonate d'ammoniaque et d'eau de thymol). On lave les coupes à l'eau, on les deshydrate dans l'alcool, et on les plonge pendant quelques minutes dans l'huile d'aniline, puis dans l'huile de térébenthine; de là, on les transporte pour 1 ou 2 minutes dans du xylol, puis de nouveau pour quelques instants dans l'huile d'aniline. On les place ensuite, pendant 10 à 15 minutes, dans une solution concentrée

d'auramine à l'huile d'aniline. De là, on les transporte de nouveau dans l'huile d'aniline pure, la térébenthine et le xylol. Finalement, on les monte dans le baume de Damar au xylol. On ne décolore pas avec des acides. Après cette triple coloration, le protoplasme est gris-jaune, les noyaux des cellules sont violets et les bacilles rouges.

M. Metschnikoff a trouvé dans le spermophile (*Spermophilus guttatus*, Temminck) un animal très approprié à ce genre de recherches. Sans posséder d'immunité à l'égard de la tuberculose, ce petit rongeur, très répandu dans la Russie méridionale, résiste cependant longtemps à de fortes doses de virus. Trois mois après l'injection de 0,5 ccm d'une émulsion épaisse de bacilles très virulents cultivés sur l'agar glycériné, il est apparemment encore en bonne santé, bien que la rate, le foie et les glandes soient déjà fortement tuméfiés et contiennent des masses de bacilles. L'injection d'un centimètre cube dans la cavité péritonéale le tue en quelques semaines. A l'autopsie, on ne trouve point encore de tubercules, mais les organes (foie, rate, glandes lymphatiques) renferment des quantités énormes de cellules géantes dont on peut étudier le développement à ses différents degrés. Chez le spermophile, ce développement est partout le même. En examinant les coupes on remarque de suite une quantité de cellules épithélioïdes dont les noyaux sont en karyokinèse; il est à remarquer que l'on ne voit, en fait de figures karyokinétiques, que le *monaster* et point de *diaster*. Ici la karyokinèse n'aboutit pas à une augmentation de la cellule, mais à la cellule géante, dont les noyaux sont formés par les rayons de *l'aster*. On voit, en effet, ceux-ci s'épaissir à leur bout, prendre une forme de massue, et finalement se transformer en ce qui sera plus tard les noyaux de la cellule géante. Pendant tout ce processus, le protoplasme des cellules épithélioïdes augmente beaucoup et acquiert peu à peu les dimensions de la cellule géante. D'autres fois aussi, le noyau lobulé d'une cellule épithélioïde se fragmente simplement en plusieurs noyaux filles. L'auteur n'a, par contre, jamais pu constater avec certitude, chez le spermophile, la formation d'une cellule géante par la fusion de plusieurs cellules épithélioïdes. La lutte s'engage au début entre le parasite et les cellules épithélioïdes qui, parfois, semblent tuer les bacilles, car ceux qu'elles renferment sont quelquefois épaissis et ne se colorent plus. La plupart, cependant, gardent leur aspect normal, et la véritable lutte ne commence que quand les cellules géantes sont formées. On remarque alors diverses formes de dégénération chez les bacilles qu'elles englobent. A côté de bacilles normaux, on en voit qui se colorent mal ou restent incolores (avec une double

coloration, fuchsine et bleu de methylène, ces bacilles dégénérés prennent la couleur bleue). Dans d'autres cellules géantes, les bacilles sont déformés ou s'entourent d'une gaîne claire ressemblant à la capsule des bacilles de Friedlaender. A un stade plus avancé de dégénération, ces capsules prennent des contours plus distincts et une couleur jaunâtre, pendant que les bacilles disparaissent et finissent par former des amas de corps compacts très-caractéristiques en forme de boudins jaunes-ambrés. Nous ne pouvons malheureusement pas suivre, ici, l'auteur dans tous les détails qu'il donne, car il faudrait pour cela reproduire les nombreux dessins explicatifs qui accompagnent son mémoire. Les faits qu'il a observés nous semblent néanmoins d'une importance capitale. Jusqu'ici, en effet, l'objection principale que l'on pouvait adresser à la théorie de M. Metschnikoff est que rien ne prouve que les bactéries que l'on rencontre dans les phagocytes soient tuées par ceux-ci; celles qu'on y trouve sont mortes, il est vrai, ainsi que l'on peut s'en assurer par des inoculations, et, comme on le voit, par le fait qu'elles ne se colorent plus et par la dégénérescence de leurs formes. Mais il se pourrait aussi que les phagocytes n'absorbent que des bactéries déjà mortes, et ne puissent rien contre celles qui sont vivantes. Il ne faut pas oublier, en effet, qu'il se trouve toujours dans les cultures inoculées un certain nombre de bactéries mortes ou dégénérées; ce serait donc celles-ci qui se retrouveraient plus tard dans les phagocytes. Or, d'après ces dernières observations de M. Metschnikoff, on retrouve dans les cellules géantes le bacille sous une forme qui ne se voit ni dans les cultures, ni ailleurs. L'idée semble donc s'imposer que les modifications dont il a été parlé sont bien dues à l'action des cellules géantes. Selon M. Metschnikoff, on pourrait s'expliquer le processus ainsi: les bacilles attaqués par les cellules secrèteraient, dans un but défensif, la capsule dont ils s'entourent, mais celle-ci serait pénétrée par les secrétions de la cellule, d'où la mort du bacille et la solidification de son enveloppe. D'autres fois, par contre, les cellules succombent; on voit alors les cellules géantes farcies de bacilles normaux; quelquefois aussi, M. Metschnikoff a vu des cellules géantes contenir dans leur centre des bacilles morts, tandis que la périphérie était remplie de bacilles dont l'état semblait tout à fait normal. Les formes dégénérées des bacilles sont d'autant plus nombreuses que le temps qui s'est écoulé entre l'infection et la mort a été plus long. M. Metschnikoff a retrouvé les mêmes phénomènes de lutte des cellules géantes dans les organes (foie, glandes lymphatiques) du lapin. Cet animal étant toutefois beaucoup moins résistant à l'égard de la tuber-

culose que le spermophile, il faut choisir un mode d'infection qui donne aux cellules le temps d'organiser leur résistance. L'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil donne à cet égard de bons résultats, tandis qu'en injectant le virus dans les veines, les lapins meurent en peu de temps sans que l'on puisse observer de résistance de leur part. Par contre, la cellule géante est formée, chez cet animal, non pas comme chez les spermophiles par le bourgeonnement du noyau, mais par la fusion de deux ou plusieurs cellules épithélioïdes, sans que l'on observe de changements notables dans les noyaux.

E. F.

Dr Sirotinin. — **De l'action nocive des produits de culture sur le développement des bactéries et de l'hypothèse dite « de la rétention »** (*Zeitschrift für Hygiene*, IV, 2, p. 262).

Le but du travail de M. Sirotinin est de rechercher si la théorie d'après laquelle l'immunité produite par la première atteinte d'une maladie infectieuse est due à des substances sécrétées par le microbe qui modifieraient le terrain de façon à le rendre peu propice à une nouvelle infection, théorie que l'auteur appelle *hypothèse de la rétention*, trouve un appui ou non dans les expériences que l'on peut faire au sujet de l'action nocive des produits de culture des bactéries sur leur propre développement ou sur celui d'autres microbes, dans des milieux nutritifs artificiels. Cette question, à laquelle les expériences de MM. Roux et Chamberland, sur l'immunité produite par les substances solubles, ont prêté un intérêt tout particulier, a déjà tenté quelques expérimentateurs. M. Garré, par exemple, avait remarqué qu'une gélatine infestée par le *Bacillus fluorescens putidus* devenait impropre à la culture de certaines espèces de bactéries; il multiplia ses expériences et arriva à conclure à un antagonisme entre ces bactéries, qu'il attribue à l'action nocive des substances sécrétées par le microbe dans ses milieux de culture. Nous avons nous-même publié une série de recherches sur le même objet, mais, comme le fait remarquer M. Duclaux avec raison, cette étude est des plus délicates, et nous sommes pour longtemps encore condamnés à chercher avant de formuler des conclusions trop absolues. En se hâtant trop de conclure, dans l'état où est la question, on risquerait, en voulant trop prouver, de ne rien prouver du tout.

A ce point de vue, les conclusions de M. Sirotinin nous paraissent quelque peu affirmatives, et il y a lieu, croyons-nous, de pour-

suivre l'étude de la concurrence vitale entre les microbes, qui nous réserve probablement encore bien des surprises.

La méthode employée par M. Sirotinin a consisté à cultiver en grand un microbe donné dans un milieu nutritif, bouillon ou gélatine, à le débarrasser au bout d'un certain temps de ses germes, et à employer ces milieux altérés, contenant les produits de culture, à la confection de gelées nutritives. Ces dernières étaient réparties dans des tubes à essai, ensemencées avec d'autres microbes et coulées en plaques, en même temps que l'on faisait des cultures sur plaques des mêmes bactéries avec de la gélatine ordinaire. La comparaison des deux séries de plaques permettait alors de juger des différences de développement dans les milieux nutritifs diversement altérés.

Pour débarrasser une vieille culture de ses germes, on peut recourir à deux méthodes : la stérilisation par la chaleur et la filtration à froid par un filtre Chamberland. Le second procédé est, à notre avis, le seul applicable dans ces recherches, attendu que la chaleur pourrait détruire les produits de cultures dont on veut précisément étudier l'action. M. Sirotinin le reconnaît, et il donne même un exemple frappant de l'action de la chaleur sur les ferments formés par les bactéries ; ainsi, en ajoutant de la gélatine à du bouillon dans lequel il avait cultivé des espèces qui liquéfient la gélatine et qu'il avait filtré à froid, il avait remarqué que le bouillon ne se prenait pas, tandis que des cultures sur gélatine liquéfiées, stérilisées à 100° et auxquelles on ajoute de la gélatine, redeviennent solides en se refroidissant, parce que la chaleur a détruit le ferment auquel est due la liquéfaction de la gélatine. Malgré cela, M. Sirotinin a cru pouvoir, à la suite de trois expériences comparatives qui lui ont semblé prouver qu'il n'y a pas de différence appréciable, au point de vue des matières nocives qu'elles peuvent contenir, entre les cultures filtrées à froid et celles qui ont été stérilisées par la chaleur, recourir exclusivement, dans ses recherches, à ce dernier procédé, qui exige moins de temps et de peine. Ceci est fort regrettable, car les les expériences comparatives faites par M. Sirotinin sont trop peu nombreuses, et surtout elles ont été pratiquées avec un nombre trop peu considérable d'espèces bactériennes diverses, pour qu'elles puissent légitimer l'emploi de la stérilisation par la chaleur quand on veut débarrasser une culture de ses germes sans s'exposer à détruire les ferments ou les ptomaïnes qui y sont contenus. Nous n'avons qu'à rappeler ici les expériences publiées par M. Miquel dans l'*Annuaire de Montsouris* pour 1888 (p. 582), desquelles il résulte que certaines bactéries cultivées dans l'eau y forment des poisons bactériens qui peuvent être isolés et qui con-

fèrent à l'eau dans laquelle on les transporte une immunité plus ou moins étendue, mais qui sont détruits par la chaleur ; de même les travaux récents de MM. Manfredi et Traversa sur les produits de culture du microbe de l'érysipèle démontrent que les cultures stérilisées à froid sont douées d'une grande activité, tandis que traitées par la chaleur elles perdent toute leur virulence. Aussi n'est-il pas invraisemblable que les conclusions négatives auxquelles arrive, comme nous le verrons, M. Sirotinin, soient dues, en partie du moins, à ce procédé d'expérimentation. Ce savant met toutefois en garde, et c'est là un fait important, contre une cause d'erreur à laquelle la filtration à froid est sujette. Ainsi qu'il a pu s'en assurer, les filtres de terre poreuse retiennent les alcaloïdes en solution au début de la filtration, et ce n'est que quand le filtre en est saturé qu'on les retrouve dans le liquide filtré. Des cultures typhiques, par exemple, et même des solutions de strychnine, restent sans effet quand on les filtre et que l'on n'emploie que les 15 à 20 premiers centimètres cubes. Au bout d'un certain temps, par contre, le liquide filtré est aussi actif que la solution ou la culture non filtrée. En prenant la précaution de recueillir une notable quantité de liquide filtré, cet inconvénient deviendra moins sensible ; il serait cependant bon, ainsi que le propose M. Sirotinin, pour éviter que les ptomaïnes ne se trouvent trop diluées, de ne pas se servir des premiers 100-200^{ccm} obtenus par filtration.

Ainsi que nous l'avons dit, M. Sirotinin ajoutait, pour conserver les avantages des cultures solides, de la gélatine nutritive ou de la gélose à ses cultures ainsi privées de germes. Il serait préférable, croyons-nous, de se servir des milieux altérés par une culture précédente, sans aucune adjonction de matières nutritives. En agissant ainsi, il est clair que l'on rend au terrain, peut-être partiellement épuisé par le microbe qui y a précédemment pullulé, une nouvelle force nutritive, et ce milieu altéré qui eût été impropre à nourrir une autre espèce microbienne redevient un terrain propice, grâce à la gélatine et à la peptone qu'on lui ajoute ; d'autre part, les ptomaïnes formées peut-être en très petites quantités dans une culture, et tout juste suffisantes pour entraver le développement d'un nouveau microbe, peuvent se trouver diluées et affaiblies du fait de cette adjonction de matière nutritive, de façon que leur action cesse d'être sensible.

M. Sirotinin a consigné les résultats de ses expériences dans 18 tableaux. Les espèces dont il a étudié l'action nocive pour d'autres bactéries sont le *Proteus vulgaris,* le *Bacil. fluorescens liquefaciens,* le *Bacil. indicus ruber,* le *Bacterium acidi lactici,*

le spirille du choléra asiatique, le bacille du charbon et celui du typhus. Dans la gélatine préparée avec des cultures de ces organismes vieilles de 3 à 4 semaines, M. Sirotinin inoculait alors une série d'autres microbes (de 5 à 10) et comparait leur croissance sur cette gélatine spéciale et sur la gélatine ordinaire. Les gelées provenant des cultures du *Proteus*, du *Bacillus fluorescens liquefaciens*, du spirille du choléra, dont la réaction était alcaline, se montrèrent presque sans exception un aussi bon terrain de culture pour les bactéries ensemencées que la gélatine de contrôle. Seul le bacille typhique s'est montré plus difficile et a mieux crû, en général, dans cette dernière. Les gelées faites avec les cultures de charbon et du *Bacterium acidi lactici*, dont la réaction était au contraire très acide, restèrent infertiles. Les microbes implantés sur la gélatine très acide du *Bact. acidi lactici* furent même tués par ce séjour dans un milieu acide, car, transportés dans un terrain plus propice, ils ne donnèrent lieu à aucune végétation. M. Sirotinin neutralisa alors ces deux gelées et vit les organismes ensemencés y croître aussi bien, à peu d'exceptions près, que dans la gélatine de contrôle. Il en tire la conclusion que l'acide formé dans les cultures était le seul facteur nocif. L'expérience faite avec les cultures typhiques est particulièrement intéressante, parce que M. Sirotinin a pu, dans ce cas, le bacille du typhus ne liquéfiant pas la gélatine, se passer d'ajouter de nouvelles matières nutritives aux anciennes cultures. Ici, il procéda ainsi : des tubes de gélatine furent inoculés sur une surface oblique avec le bacille typhique; une fois bien développées, les cultures furent soigneusement enlevées et la gélatine stérilisée à nouveau, puis ensemencée avec d'autres organismes. Sur cette gélatine le bacille typhique ne croît que très faiblement. Le bacille du charbon, celui de la septicémie des lapins et le *Micrococcus* de l'érysipèle furent également retardés dans leur croissance, tandis que, dans la gélatine de même provenance, mais additionnée de 1 % de peptone et de 0.1 % d'extrait de viande, la croissance des organismes implantés se montra aussi belle que sur la gélatine de contrôle. Ce fait semblerait prouver que dans ces cas d'antagonisme entre bactéries le facteur principal serait l'épuisement du milieu nutritif et non pas la production d'un poison bactérien. Quelques autres expériences faites de la même manière avec des cultures du *Bacillus murisepticus,* du *Bacil. fluorescens putidus,* du *Bacil. pyog. foetidus,* et du *Bacil. sputigenus crassus* donnèrent des résultats analogues, c'est-à-dire que la gélatine ayant servi à la culture de ces organismes redevenait un terrain propice pour la culture d'autres bactéries, dès qu'on la neutralisait et qu'on l'additionnait de peptone et d'extrait de viande.

Des faits qui précédent M. Sirotinin conclut que les bactéries ne rendent un milieu nutritif infécond pour d'autres microbes, que par l'épuisement du milieu ou par les modifications qu'elles apportent dans sa réaction, tandis que la formation de véritables poisons bactériens ne serait que l'exception. Cette conclusion nous semble tant soit peu hâtive. La réaction du milieu joue certainement un rôle important dans cette question, et ce n'est pas un des moindres mérites du travail de M. Sirotinin que d'avoir particulièrement attiré l'attention sur ce point. Aussi serions-nous disposés à croire que certains organismes pathogènes plus délicats qui, dans les expériences de M. Sirotinin et dans les nôtres, ont généralement crû avec difficulté sur les terrains altérés par d'autres microbes (bacille typhique, du choléra des poules, de la morve), ont surtout été gênés par une réaction qui ne leur convenait pas; cependant, la réaction n'explique pas tout ; l'alcalinité surtout, cas le plus fréquent dans les milieux altérés par les bactéries, semble convenir parfaitement à un grand nombre de bactéries, — M. Sirotinin en donne lui-même un exemple avec la gélatine du *Proteus vulgaris* qui, quoique très alcaline, s'est montrée un excellent terrain de culture, — et cependant, dans nos propres expériences, nous avons vu des bouillons de culture, dont la réaction alcaline n'était pas trop accentuée, être peu propices à un développement abondant des bactéries qui y étaient semées. D'autre part, quand on voit, comme cela a été le cas dans nos expériences, le spirille du choléra asiatique, qui ne craint pas la réaction alcaline et auquel un bouillon très peu chargé de matières nutritives suffit pour croître abondamment (Meade Bolton), pousser péniblement dans les bouillons de culture du *Bacil. pyog. fœtidus,* du pneumocoque de Friedlaender, du spirille de Denke et dans ses propres bouillons de culture, il semble difficile d'admettre que seul l'épuisement du milieu produise tous ces effets. Pour que les expériences de M. Sirotinin fussent concluantes sur ce point, il faudrait au moins qu'elles eussent été faites dans des conditions excluant la possibilité de la destruction des poisons bactériens produits dans les cultures ; or, nous avons vu plus haut que le mode de stérilisation choisi par lui est loin de rendre ce fait improbable.

M. Sirotinin prépara aussi une gélatine avec une infusion de viande putréfiée et avec du purin, pour voir si un mélange de bactéries, et en particulier de bactéries de la putréfaction, ne formerait pas peut-être plus facilement des ptomaïnes nuisibles pour d'autres microbes. La gélatine préparée avec l'infusion de viande se montra aussi nutritive que la gélatine ordinaire ; remarquons, cependant, que le bacille typhique se montra là aussi plus sensible que les autres microbes ensemencés.

La gélatine au purin était extrêmement alcaline et ne laissa bien croître que le bacille du charbon et le *Bacil. murisepticus*, ce qui tenait probablement au degré par trop accusé d'alcalinité du milieu.

M. Sirotinin termine enfin son travail par quelques recherches sur l'action de l'acide carbonique, à la production duquel les bactéries, on le sait, contribuent fréquemment. Il résulte de ses expériences que les cultures faites en présence de ce gaz sont moins abondantes, si même elles ne sont pas entièrement entravées, que dans les cultures soumises à l'action de l'oxygène. Les organismes cultivés étaient au nombre de huit : Bacille typhique, spirilles du choléra et de Finkler, *Staph. albus, Bacil. fluor. liquef.*, bacille du charbon, *Bacil. cuniculicida* et *Bacil. murisepticus*. Il se pourrait donc que l'action de ce gaz ne fût pas négligeable dans l'étude des cas d'antagonisme entre bactéries.

La conclusion que M. Sirotinin tire de l'ensemble de ses recherches est que celles-ci sont loin de fournir un appui à la théorie de l'immunité par rétention de matières solubles dans l'organisme, attendu que les seules matières nocives dont il ait pu déceler la présence dans les cultures sont, ou bien tout à fait hors de cause comme l'acide carbonique, ou bien n'agissent qu'en vertu de l'acidité ou de l'excès d'alcalinité qu'elles communiquent aux cultures, mode d'action qui ne joue certainement aucun rôle dans la production de l'immunité conférée à un organisme.

E. F.

A. Charrin et A. Ruffer. — **Sur l'élimination par les urines des matières solubles vaccinantes, fabriquées par les microbes en dehors de l'économie** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CVII, page 630).

M. le professeur Bouchard avait déjà établi qne les urines des lapins ayant succombé à l'injection du bacille du pus bleu constituaient un liquide vaccinal de l'affection déterminée par ce microbe. MM. Charrin et Ruffer se sont proposé de savoir si les matières vaccinales solubles qui prennent naissance en dehors de l'économie animale, par exemple dans des milieux artificiels, sont capables de traverser le corps du lapin et de se retrouver dans les urines sans avoir perdu la propriété de conférer l'immunité.

Deux séries d'expériences ont été instituées pour résoudre ce problème. Dans une première série, le virus pyocyanique, stérilisé

à 115°, a été injecté pendant 3 jours à haute dose (20 cc par kilog.) dans le tissu cellulaire de plusieurs lapins, dont les urines ont été soigneusement recueillies. Ces urines, débarrassées à froid et par filtration de tout germe, ont été injectées (15 cc par kilog.) pendant 3 jours à une nouvelle série de lapins, qui ont été inoculés ensuite avec le bacille du pus bleu; ces lapins ont résisté; les animaux témoins, qui n'avaient pas été soumis aux inoculations préventives d'urine, sont morts au plus en 30 heures. Donc, ajoutent judicieusement MM. Charrin et Ruffer, ces expériences établissent: que, dans la maladie pyocyanique, les substances chimiques, fabriquées dans les milieux de culture artificiels, traversent le corps des lapins, et s'éliminent par les urines en conservant leurs propriétés vaccinantes; de plus, que ces substances chimiques vaccinantes ne sont pas, pour la majeure partie du moins, fabriquées par les cellules de l'animal, mais par le bacille de Gessard lui-même.

Dr M.

J. de Christmas. — **Recherches expérimentales sur la suppuration.**
(*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, page 470).

Après avoir rappelé les expériences de plusieurs savants, qui ont érigé en principe que la suppuration est toujours due aux microbes, et celles de MM. Councilmann, Orthmann, Uskoff, Grawitz et de Bary, qui ont paru établir le contraire, M. de Christmas arrive, par un ensemble d'expériences bien conduites, à une conclusion mixte, si l'on peut s'exprimer ainsi.

Plusieurs substances, telles que l'essence de térébenthine, le pétrole, le chlorure de zinc, le nitrate d'argent et la glycérine, injectées dans la chambre intérieure de l'œil avec les précautions de l'antiseptie la plus rigoureuse, ne produisent pas de pus; tandis que le mercure provoque la pyogénèse en l'absence de tout organisme microscopique. Dès lors, il semble à M. de Christmas que la suppuration doit être considérée comme l'effet d'une réaction des tissus contre certains poisons inorganisés, d'origine bactérienne ou de nature purement chimique.

Dr M.

BIBLIOGRAPHIE

G. Bizzozero et Ch. Firket. — **Manuel de Microscopie clinique,** 3e édition, 1888, 1 vol. gr. in-8o. 544 pages, avec 246 grav. en noir et en couleur. — A. Manceaux, lib.-éditeur, Bruxelles.

Pour se faire une idée exacte des progrès rapides des études microbiologiques appliquées à la clinique, il suffit de comparer la première édition du livre publié par le Dr Bizzozero avec la troisième édition française du *Manuel de microscopie clinique,* que M. Bizzozero et M. Ch. Firket, le savant professeur d'anatomie pathologique à l'Université de Liège, offrent cette année au public studieux.

Ce n'est pas en quelques lignes qu'on peut faire ressortir les nombreuses qualités d'un ouvrage de cette valeur ; nous devons nous contenter ici d'en indiquer à grand trait la division.

La technique du microscope est d'abord présentée sous une forme qui la rend compréhensible aux personnes les moins expertes; le chapitre deuxième constitue, à lui seul, un précieux traité de microbiologie, où les méthodes diverses, pour la préparation des tissus animaux, la coloration, la décoloration des microorganismes et la culture des espèces sont décrites avec autant de soin que de précision. Dans les chapitres suivants, il est traité de l'examen du sang, des exudats, des liquides kystiques, etc. Plusieurs paragraphes, très intéressants, sont consacrés à l'examen de la peau, des muqueuses, des substances contenues dans la bouche, des crachats et des matières renfermées dans le tube digestif. Les liquides divers des organes génitaux, le sperme et les produits de sécrétion des organes sexuels de la femme font l'objet d'un chapitre du plus haut intérêt, pour la clinique et la médecine légale ; enfin, dans un dernier chapitre, MM. Bizzozero et Firket exposent magistralement nos connaissances actuelles en urologie.

Le plus grand éloge qu'on puisse faire de ce livre est de dire que le lecteur le parcourt de la première page à la dernière, sans

fatigue, et toujours avec un vif intérêt, grâce aux transitions naturelles qui en unissent toutes les parties. Nous ne parlerons pas des nombreuses figures intercalées dans un texte typographique irréprochable, qui viennent sans cesse éclairer les descriptions; l'éditeur de cet ouvrage n'a rien négligé pour présenter au lecteur une édition comparable aux livres les mieux faits de notre époque.

La troisième édition du *Manuel de microscopie clinique*, de M. Bizzozero, mis au courant de la science actuelle par M. le professeur Firket, doit trouver sa place, non seulement sur la table des anatomo-pathologistes, mais entre les mains de tous les praticiens qui sont désireux de demander au microscope la confirmation des diagnostics délicats, ou les éléments qui peuvent permettre, en bien des circonstances, de les asseoir sur des données expérimentales certaines.

Dr M.

GEZA ENTZ. — **Étude sur les Protistes, I.** (*Entwicklung der Kenntniss der Protisten. Ein historisch-kritischer Ueberblick,* 1 vol. in-4°, 464 pages, Budapest, 1888).

Ainsi que l'indique son titre, cet ouvrage n'est que l'introduction d'une histoire complète des Protistes. Il comprend en réalité deux volumes réunis en un seul : le premier est le travail original de l'auteur en hongrois, p. 1-211; le second, la traduction allemande de ce travail.

L'auteur a divisé son historique en trois époques. La première va de Leeuwenhoech à O. F. Müller, la seconde est celle d'Ehrenberg et de Dujardin, la troisième, enfin, comprend tous les travaux faits depuis 1841 jusqu'à nos jours.

Il était assez difficile de faire une histoire des Protistes sans répéter et ressasser les historiques déjà nombreux sur cette branche de nos connaissances zoologiques; le Dr Entz a tourné la difficulté et a eu l'heureuse idée de suivre, non point la chronologie pure et simple des auteurs, mais bien l'histoire de la connaissance de chaque organe et de chaque groupe. Il a donc divisé son sujet en trois grands groupes : 1° La marche de nos connaissances en ce qui concerne la morphologie et la taxinomie; 2° les études faites sur l'organisation; 3° l'histoire du développement.

Grâce à cette ingénieuse idée, l'ouvrage, écrit par un homme absolument compétent en ces matières, devient pour le chercheur

un guide précieux qui lui permet de se débrouiller au milieu des généralités et de se mettre immédiatement au courant d'une question quelconque concernant l'une de ces trois parties de l'histoire des Protistes.

L'ouvrage du Dr Entz lui a valu un prix de mille florins décerné par la Société hongroise d'Histoire naturelle.

F. D.

Léon Moulé. — **Des Sarcosporidies et de leur fréquence, principalement chez les animaux de boucherie** (Broch. in-8°, 41 pages, 8 pl.).

M. Moulé, préparateur au laboratoire de l'Inspection de la boucherie de Paris, s'est attaché principalement à établir les proportions dans lesquelles se trouvaient les sarcosporidies dans les viandes, leurs rapports avec l'état de santé des animaux abattus. Chez les sujets cachectiques, moutons, bœufs, chèvres, porcs et chevaux, elles sont très fréquentes; beaucoup plus rares chez les sujets sains.

M. Moulé a établi très rigoureusement des moyennes basées sur un très grand nombre d'examens microscopiques. Les moutons cachectiques, par exemple, présentent une proportion de 98 p. °/o d'individus infestés, tandis que les moutons gras n'en donnent que 44 p. °/o, les chèvres maigres 46 p. °/o, les grasses 33 p. °/o, etc.

Ce travail constitue, au point de vue spécial où l'auteur s'est placé, une bonne étude de statistique.

F. D.

P. Francotte. — **Conférence sur la Microphotographie appliquée à l'histologie, l'anatomie comparée et l'embryologie**, broch. in-8° de 34 pages, avec 5 fig. et une planche. — A. Manceaux, lib.-éditeur, Bruxelles.

M. Francotte publie, en quelques pages élaguées de phrases inutiles, un véritable précis de photomicrographie, où la sobriété du style le dispute à la clarté des descriptions et à l'abondance des détails techniques sur le choix des appareils, des méthodes d'éclairage, des formules les plus simples et les plus heureuses. Ce savant vulgarisateur d'une des parties les plus attrayantes de la micrographie ne se perd pas en recommandations banales et

nombreuses, il explique clairement comment on doit opérer, et conduit, pas à pas, l'expérimentateur novice au but qu'il doit atteindre, c'est-à-dire à la réussite. Nous recommandons vivement la brochure de M. Francotte à tous ceux qu'intéresse la photomicrographie, certain, à l'avance, qu'elle leur rendra les plus grands services.

Dr M.

Prof. Dr Baumgarten. — **Iahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Microorganismen** (*Rapport annuel sur les progrés réalisés dans la doctrine des microorganismes pathogènes*).

Depuis trois ans, M. le professeur Baumgarten publie, chaque année, un rapport sur les progrès réalisés en bactériologie, dans lequel il nous donne une analyse souvent très détaillée de tous les travaux parvenus à sa connaissance. Disons, pour que l'on juge de l'extension prise par les recherches bactériologiques, que le premier rapport analysait 203 mémoires, le second 535, et le troisième, paru au mois de juillet dernier, 817, tous publiés en 1887. Le contenu de ce dernier, qui forme un volume de 517 pages, est trop riche pour pouvoir être analysé en quelques lignes. Nous devons donc nous borner à le signaler à l'attention de tous ceux qui s'occupent de bactériologie. Un registre des noms d'auteurs et une table alphabétique des matières facilitent les recherches.

E. F.



L'Éditeur-Gérant :

Georges CARRÉ.

TROYES, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

FORMATION

DES SPORES DE LA GRÉGARINE DU LOMBRIC[1]

PAR

Le Dr F. HENNEGUY

Les auteurs qui se sont occupés de la constitution et de la reproduction des Grégarines se sont bornés jusqu'ici à étudier ces Protozoaires à l'état frais, par transparence, à les dilacérer dans des liquides indifférents ou fixateurs, ou à les monter dans des liquides conservateurs après fixation ou coloration. J'ai pensé que la méthode des coupes, indispensable pour les recherches embryogéniques, pourrait être appliquée avec succès à l'étude du développement des Grégarines. Bien que toutes les phases de l'évolution de ces parasites, enkystement, formation des spores et des corps falciformes, soient aujourd'hui bien connues, grâce surtout aux belles recherches de MM. Aimé Schneider, O. Bütschli et Balbiani, les phénomènes intimes, dont ces kystes sont le siège pendant la sporulation, et principalement les modifications du noyau, ont échappé à ces savants observateurs.

Lorsqu'on veut pratiquer des coupes minces à travers des Grégarines, on se trouve en présence de deux difficultés : la petite taille de ces organismes qui les rend peu maniables, et la résistance que leur enveloppe oppose à la pénétration des liquides fixateurs et des masses à inclusion. On parvient à tourner ces difficultés en laissant les

(1) Travail du Laboratoire d'Embryogénie comparée du Collège de France.

Grégarines en place dans les organes qui les renferment, et en faisant des coupes à travers ces organes durcis. Mes recherches ont porté sur la *Clepsidrina Blattarum*, la *Klossia helicina* et le *Monocystis agilis*. Cette dernière espèce m'a seule donné jusqu'à présent de bons résultats.

Les testicules de Lombric renfermant le *Monocystis* ont été fixés par l'alcool, le liquide de Kleinenberg, le liquide de Flemming, le liquide de Perenyi et le sublimé corrosif, puis durcis par l'alcool et inclus dans la paraffine. Les coupes en série, fixées au porte-objet par l'albumine glycérinée de Mayer, ont été colorées par le carmin au borax, le carmin aluné acide, la safranine et le violet de gentiane. Les meilleures préparations m'ont été fournies par l'alcool, le liquide de Perenyi et le sublimé, employés comme fixateurs, par la safranine et le carmin aluné comme colorants.

Lorsqu'on examine une série de coupes du testicule du Lombric, préparé aux mois de mai et de juin, on trouve à peu près tous les stades de l'évolution du parasite. On voit de jeunes Grégarines renfermées dans les vésicules claires qui portent à leur surface les cellules de développement des spermatozoïdes, des Grégarines adultes, d'autres enkystées, et des kystes depuis le commencement de la segmentation jusqu'à l'achèvement complet des corpuscules foliiformes *(Pl. I, fig. 1)*.

Les jeunes *Monocystis* sont constitués par une petite masse de protoplasma homogène, entourée d'une membrane mince à double contour, et renfermant un noyau assez volumineux, pourvu d'un nucléole se colorant fortement par le carmin. Dans la Grégarine adulte, libre ou enkystée, le protoplasma (endosarc, endoplasme ou entocyte de Schneider) est rempli de corps réfringents, considérés par Henle (1) comme des granulations calcaires, par Stein (2) comme des globules graisseux. Bütschli (3) a

(1) Henle, *Ueber die Gattung Branchiobdella und ueber die Deutung der inneren Geschlechstheile bei Anneliden und hermaphoditischen Schnecken* (*Müller's Archiv*, 1835).

(2) Stein, *Ueber die Natur der Gregarinen* (*Müller's Archiv*, 1848).

(3) O. Bütschli, *Notiz ueber das Vorkommen einer den amyloïd Verwandtensubstanz in einigen niederen Thiere* (*Archiv f. Anat. u. Physiol.*, 1870).

reconnu le premier qu'ils étaient formés d'une substance amyloïde, présentant à la fois certaines réactions des matières azotées et de l'amidon. Frenzel (1) pense que ces corps sont de nature albuminoïde. Bütschli (2), dans un nouveau travail, rapproche la substance de ces granules de la matière glycogène et la désigne sous le nom de *paraglycogène*. M. Maupas (3) a récemment bien décrit les corps réfringents des Grégarines. Il a vu que leurs dimensions sont très diverses et que leur plus grand diamètre peut varier de 1 μ à 20 μ. Il a constaté que, dans la lumière polarisée, les nicols croisés, les granules présentent une croix de polarisation semblable à celle de l'amidon végétal. Ces granules se colorent en jaune brunâtre par l'iode, et, si l'on ajoute de l'acide sulfurique à 40 pour 100, ils se gonflent, se plissent et prennent une coloration violet lilas. Insolubles dans l'eau froide, ils se dissolvent dans l'eau chaude. La solution réduit la liqueur cupropotassique. M. Maupas pense que ces granules se rapprochent plus de l'amidon que du glycogène, et il propose de remplacer la dénomination de paraglycogène de Bütschli par celle de *zooamylum*. J'ai pu vérifier en grande partie les faits annoncés par M. Maupas, et j'ai constaté de plus la manière dont se comportent les granules vis à vis de certaines matières colorantes.

Les corps réfringents du *Monocystis*, examinés à un fort grossissement, ont une forme arrondie ou, le plus souvent, ellipsoïdale. Tantôt, dans une même Grégarine, tous les corps réfringents ont à peu près la même dimension, tantôt à côté de gros grains on en observe de très petits. Les corps amylacés présentent une croix brillante, dirigée suivant les axes de l'ellipsoïde. Cette croix se voit sans l'emploi de la lumière polarisée *(Pl. I, fig. 4)*. Colorés par le violet de gentiane, suivant la méthode d'Erlich, ces corps

---

(1) Frenzel, *Ueber einige in Seethieren lebende Gregarinen* (*Archiv f. mikr. Anat.*, 1885).

(2) Bütschli, *Bemerkungen ueber einen dem Glycogen verwandten Kærper in den Gregarinen* (*Zeit. Biol.*, 1885).

(3) Maupas, *Sur les granules amylacés du cytosome des Grégarines* (*C. R. Acad. des Sc.*, CII, 1886).

se comportent de deux manières différentes: ils sont teints fortement en violet, la croix brillante restant incolore, ou bien la croix seule est colorée en violet, le reste des grains n'étant que faiblement teinté en bleu pâle *(Pl. I, fig. 2 et 3)*. Cette différence de coloration tient probablement à la structure des corps amylacés. Leur partie axiale, correspondant à la croix, doit être formée d'une substance plus condensée et se laissant moins facilement pénétrer par les matières colorantes que celle qui constitue le reste des grains. Lorsqu'on laisse agir le violet de gentiane pendant peu de temps, la croix ne se colore pas; si, au contraire, la teinture est énergique, quand on décolore par l'alcool, suivant le procédé des surcolorations, la croix retient plus fortement le violet que le reste du grain. Traités par une solution d'iode iodurée, les corps réfringents prennent une teinte vineuse, comme l'ont constaté Bütschli et Maupas. Pendant les premiers instants de l'action de la solution, ils montrent la croix claire, mais ils ne tardent pas à se déformer et à se colorer uniformément. Souvent, principalement dans les grains amylacés de petite taille, la croix brillante, ou colorée en bleu par le violet d'Erlich, est remplacée par une ligne dirigée suivant le grand axe du grain ; la petite branche de la croix n'est pas visible *(Pl. I, fig. 3)*. Dans les préparations colorées à la safranine ou au carmin, et montées dans le baume du Canada, les corps réfringents deviennent invisibles ; le réseau protoplasmique dans lequel ils sont plongés est alors très net, et les transformations des noyaux peuvent être suivies avec la plus grande facilité.

M. A. Schneider (1) a étudié récemment les grains amylacés de la *Clepsidrina granulosa*, qui vit dans le tube digestif des larves d'Ephémères. Il ne les a trouvés toujours que dans le protomérite du Primite, et jamais dans le protomérite du Satellite. Les grains sphériques mesurant de 4 à 7 μ présentent un hile qui paraît noir quand on élève le point, et brillant quand on l'abaisse. Dans la lumière polarisée, on obtient une croix à quatre branches

---

(1) A. Schneider, *Grégarines nouvelles ou peu connues* (*Tablettes zoologiques*, t. II, 1, 1887).

cunéiformes. Les grains amylacés de cette Grégarine se comportent donc comme ceux du *Monocystis*.

Les parois des kystes sont constituées par une membrane anhiste à double contour, à l'intérieur de laquelle se trouve une autre membrane beaucoup plus mince, à un seul contour *(Pl. I, fig. 4)*. Celle-ci reste généralement appliquée sur la masse protoplasmique, lorsqu'elle se contracte sous l'influence des réactifs.

On sait, depuis les travaux de Stein (1), Lieberkühn (2), Aimé Schneider (3), Bütschli (4) et Balbiani (5), que le *Monocystis*, après enkystement, produit des spores ou *pseudonavicelles* (Frantzius), qui se forment par des processus différents. Tantôt la surface du contenu du kyste se couvre de petites vésicules claires, qui se transforment en pseudonavicelles ; tantôt le contenu du kyste subit une sorte de segmentation régulière, analogue à celle d'un œuf, et chaque sphère de segmentation devient une spore ; tantôt, enfin, le contenu se divise en un certain nombre de masses plus ou moins volumineuses, et chaque masse se recouvre ensuite de petites cellules qui deviennent des spores. Les spores renferment un noyau, et leur contenu se partage en plusieurs corps falciformes, nucléés, entourant une masse centrale, *noyau de reliquat* de Schneider. On sait en outre que, dans le testicule du Lombric, il existe deux sortes de spores : des macrospores et des microspores, environ un tiers plus petites que les premières.

Mes recherches sur le développement du *Monocystis agilis*, tout en confirmant les faits établis par mes prédécesseurs, m'ont conduit à quelques résultats nouveaux

---

(1) Stein, *loc. cit.*

(2) Lieberkühn, *Evolution des Grégarines* (*Mém. cour. et mém. d. sav. étrang., Acad. de Belgique*, t. XXVI, 1855).

(3) A. Schneider, *Contribution à l'histoire des Grégarines des invertébrés de Paris et Roscoff* (*Arch. de Zool. exp. et générale*, t. X, 1875).

(4) O. Bütschli, *Kleine Beitræge zur Kenntnis der Gregarinen* (*Zeitschr. f. wiss. Zoologie*, Bd XXXV, 1881).

(5) G. Balbiani, *Leçons sur les Sporozoaires*, Paris, 1884.

pour l'histoire des Grégarines, relativement au rôle du noyau (1).

Dans la Grégarine qui vient de s'enkyster, le noyau est constitué par une masse plus ou moins arrondie ou à contours irréguliers, renfermant un gros nucléole, se colorant fortement par les réactifs, et relié à la paroi par un réseau à peine coloré *(Pl. I, fig. 5)*. Le nucléole ressemble à celui des cellules du *Spirogyra*, dans lequel toute la matière chromatique du noyau paraît être condensée. Autour du noyau se trouve une zone de protoplasma privée de granules réfringents. Dans quelques cas, j'ai observé deux gros nucléoles dans le noyau *(Pl. I, fig. 2)*.

Bientôt des vacuoles apparaissent dans le nucléole, et celui-ci ne tarde pas à se fragmenter en plusieurs petits grains de chromatine, reliés entre eux par un réseau achromatique *(Pl. I, fig. 6, 7, 8 et 9)*. Après la fragmentation du nucléole commence la division du noyau, division indirecte dont je n'ai pu saisir que quelques phases. Mais les figures que j'ai observées, surtout celle si caractéristique de l'amphiaster avec une plaque équatoriale formée de petits grains de chromatine, me permettent d'affirmer que le noyau des Grégarines se divise par karyokinèse *(Pl. I, fig. 9 et 11)*. Presque toujours, pendant les premières divisions des noyaux, on trouve en dehors de l'amphiaster et du noyau, revenu à l'état de repos, un grain de chromatine assez volumineux, situé dans la zone protoplasmique qui entoure le noyau *(Pl. 1, fig. 11)*. Ce grain paraît être expulsé du noyau, après la fragmentation du nucléole, et au moment de la formation de l'amphiaster. Il est probable que ce corps coloré est un noyau accessoire, *Nebenkern* des auteurs allemands, dont on

---

(1) J'ai fait connaître ces résultats dans une note préliminaire, communiquée à la Société de Biologie, le 2 juillet 1887. Le numéro du *Journal of the Royal Microsc. Society*, octobre 1887, qui donne une analyse de ma note, renferme également une analyse d'un auteur hongrois, Z. v. Roboz, qui, en étudiant le développement d'une nouvelle Grégarine, *Gregarina flava*, trouvée dans le *Salpa bicaudata*, a observé la division karyokinétique du noyau. Le travail de Roboz a paru en 1886 dans *Math. u. Naturn. Ber. aus Ungarn*, IV: il est donc antérieur au mien, et la priorité de la découverte de la karyokinèse chez les Sporozoaires revient à l'auteur hongrois. Nous sommes arrivés tous les deux au même résultat d'une façon tout à fait indépendante.

connaît déjà l'existence dans un grand nombre d'éléments cellulaires. Aux stades ultérieurs du développement des kystes, on ne retrouve pas ce noyau accessoire.

M. A. Schneider (1) a observé, dans le protoplasma d'une Coccidie, l'*Eimeria Nepæ*, des granulations réfringentes se colorant par le picrocarmin comme le nucléole, et qu'il considère comme des globules albuminoïdes de réserve. Dans le deutomérite de la *Clepsidrina granulosa* et du *Stenocephalus Juli*, il a signalé également l'existence de globules ayant une grande affinité pour les matières colorantes, et qu'il rapproche de ceux qu'il a vus chez l'*Eimeria Nepæ*. Il désigne ces corps sous le nom d'*inclusions*, sans se prononcer sur leur nature (2). Les inclusions de Schneider ont-elles un rapport avec le grain coloré que j'ai constaté dans le voisinage de l'amphiaster ? Je ne le crois pas ; les inclusions sont, en effet, en général multiples et existent dans la Grégarine avant la division du noyau, tandis que le grain chromatique des *Monocystis* me paraît être en relation avec la division du noyau.

Si le contenu du kyste ne se divise pas, les noyaux continuent à se multiplier par karyokinèse et émigrent à la surface, de manière à y former une couche à peu près continue ; bientôt chaque noyau s'entoure d'une petite quantité de protoplasma. La surface du contenu du kyste est alors recouverte d'une couche de cellules à protoplasma granuleux et se colorant légèrement par le carmin, tandis que le réseau protoplasmique du kyste reste incolore *(Pl. 1, fig. 13)*. Au moment où la couche périphérique du kyste s'organise en cellules, on ne voit pas autour de chaque noyau les lignes rayonnantes qui s'observent dans le parablaste des œufs méroblastiques, lorsque les noyaux deviennent des centres de formation de cellules. Il est très probable que la petite taille des cellules des kystes du *Monocystis* empêche seule de constater la présence de ces lignes radiées, qui paraissent jouer un rôle important

---

(1) A. Schneider. *Coccidies nouvelles ou peu connues* (*Tablettes zoologiques*, t. II, 1, 1887).

(2) A. Schneider, *Grégarines nouvelles ou peu connues* (*Tablettes zoologiques*, t. II, 1, 1887).

lors de la formation de la plaque cellulaire. Chaque petite cellule de la surface du kyste s'entoure bientôt d'une enveloppe résistante et devient une spore ou pseudonavicelle *(Pl. I, fig. 14).*

Tous les noyaux ne se rendent pas à la surface du kyste; un certain nombre d'entre eux restent au centre, disposés d'une manière irrégulière. Ces noyaux subissent plus tard une dégénérescence: leur réseau chromatique se concentre et se fragmente, de sorte qu'à leur place on ne trouve plus que des grains irréguliers, fortement colorés *(Pl. I, fig. 13 et 17).* Le processus de disparition du noyau rappelle celui que Flemming (1) a signalé dans l'atrophie des cellules des follicules ovariens de la Lapine, et que j'ai observé également dans la dégénérescence des noyaux du parablaste chez les Poissons osseux. Souvent à un stade plus avancé, lorsque les spores sont bien formées, on voit dans l'intérieur du kyste de grosses masses irrégulières, très colorées par le carmin ou la safranine, et résultant de la fusion des grains de chromatine *(Pl. I, fig. 17).*

Lorsque le contenu du kyste se divise en un petit nombre de grosses masses, le processus de la formation des spores est identique. Chacune de ces masses se comporte comme le kyste indivis. Les noyaux s'y multiplient par karyokinèse, et la surface de chaque masse se recouvre de petites cellules; dans chaque masse, il reste un ou plusieurs noyaux qui subissent une régression *(Pl. 1, fig. 12).*

Je n'ai pas observé dans mes coupes le troisième mode de sporulation admis par Lieberkühn, c'est-à-dire la segmentation totale du contenu du kyste en spores. On trouve bien des kystes qui ne renferment que des spores, mais il existe toujours, à un moment donné, au centre du kyste, une masse protoplasmique réticulée et nucléée. Cette masse se résorbe et sert probablement à la nutrition des spores; on y voit, en effet, les grains amylacés se déformer et se dissoudre. Les kystes qui ne renferment que des pseudonavicelles sont les kystes arrivés au terme de leur développement, lorsque tout le contenu a été résorbé.

---

(1) W. Flemming, *Ueber die Bildung von Richtungsfiguren in Sæugethiereirn beim Untergang Graaf'scher Follikel* (*Archiv f. Anat u. Entwick, 1885*).

Le mode de formation des microspores est identique à celui des macrospores. Mais, en général, le contenu des kystes à microspores se divise en un nombre de masses plus considérable que le contenu des kystes à macrospores; c'est à la périphérie de chacune de ces masses que s'organisent les microspores, après division des noyaux par karyokinèse *(Pl. 1, fig. 16)*.

Les microspores et les macrospores appartiennent-elles à la même espèce de Grégarine? Les auteurs ne sont pas d'accord sur ce point. Il existe, en effet, dans les organes génitaux mâles du Lombric au moins deux espèces de *Monocystis*. Schmidt (1) le premier a décrit avec le *Monocystis agilis* le *M. magna*. Ruschhaupt (2) a signalé dernièrement cinq espèces : *Monocystis agilis, M. cristata, M. porrecta, M. cuneiformis, M. minuta*. Je n'ai pu constater l'existence de ces cinq espèces, mais on rencontre presque toujours associés le *Monocystis agilis* et le *M. magna*. Cependant, dans quelques cas, je n'ai trouvé que le *M. agilis*, et il n'y avait alors que des kystes à macrospores. Il se peut donc que les microspores appartiennent au *M. magna*.

Les spores, macrospores et microspores, renferment un noyau assez volumineux, pourvu d'un réseau chromatique *(Pl. I, fig. 18 et 24)*. Ce noyau se divise par karyokinèse; je n'ai pas observé toutes les phases de la division indirecte; mais, de même que pour les noyaux des kystes, j'ai rencontré deux phases caractéristiques : la plaque équatoriale et la figure pectiniforme *(Pl. I, fig. 19 et 20)*. Chacun des noyaux-filles se rend à une des extrémités de la spore et y subit deux bipartitions successives, de sorte que la spore renferme deux groupes de quatre petits noyaux. Ces derniers se portent ensuite vers le milieu de la spore, et le protoplasma de celle-ci se divise en huit corps falciformes nucléés, entourant le noyau de reliquat

---

(1) Ad. Schmidt, *Beitrag zur Kenntniss der Gregarinen und deren Entwicklung* (*Abhand. der Senckenberg. naturforch. Gesellsch.*, I, 1854).

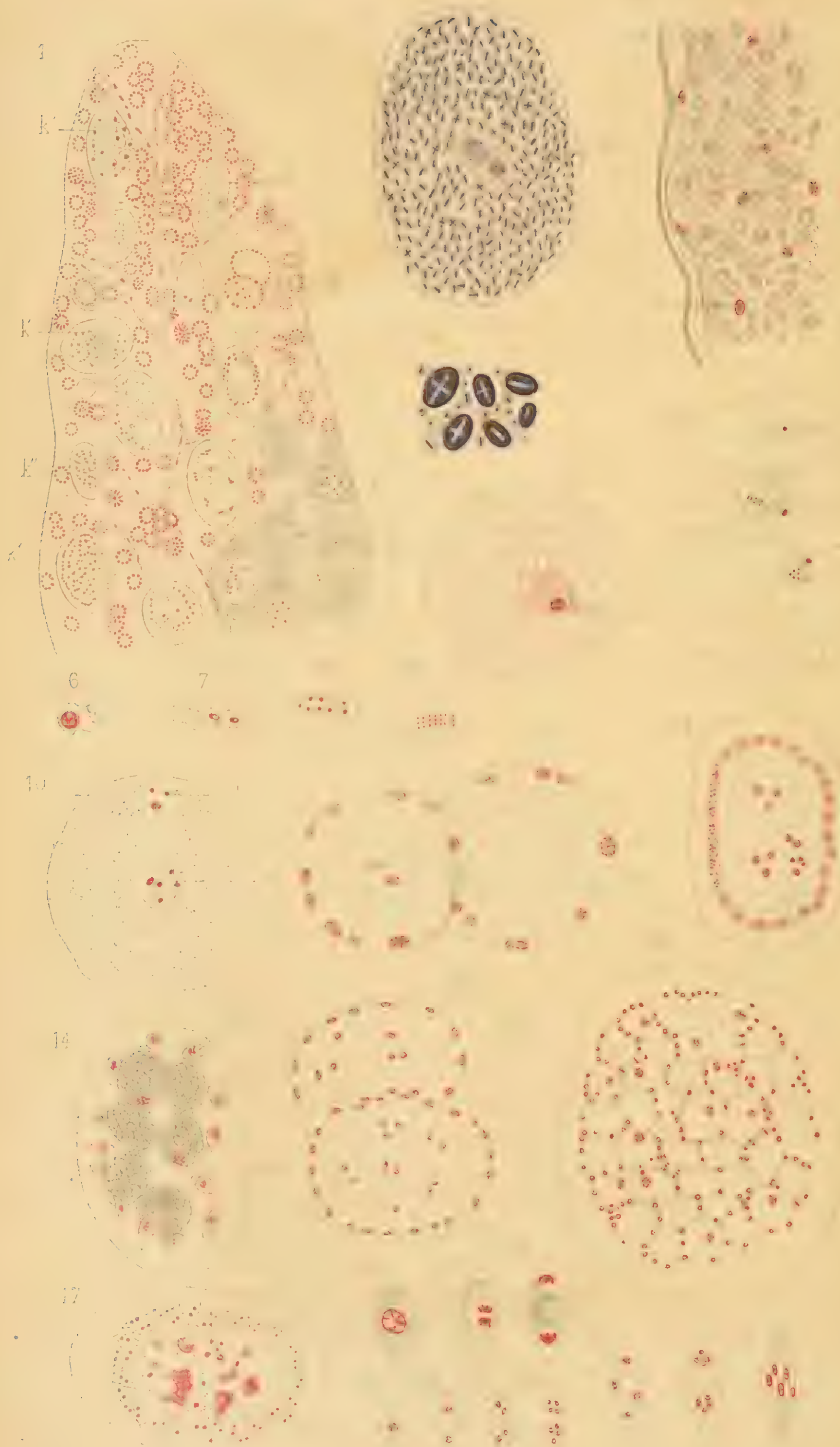
(2) F. Ruschhaupt, *Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Monocystiden Gregarinen aus dem Testiculus des Lumbricus agricola* (*Jenaisch Zeitschrift f. Naturwiss.*, XVIII, 1885).

de Schneider *(Pl. I, fig. 21 à 27)*. Ce noyau ne se colore pas par des réactifs colorants; il est déjà visible lorsque la spore ne possède encore que deux noyaux. Le terme de noyau ou nucléus de reliquat est donc impropre, car ce corps ne présente aucune des réactions caractéristiques d'un noyau; il est constitué par une masse plus finement granuleuse et plus réfringente que le reste du protoplasma de la spore. Ce corps est situé au centre de la spore, et c'est autour de lui que s'organisent les corps falciformes; il paraît diminuer de volume pendant l'évolution de la spore, et servir à la nutrition des corps falciformes. Sa présence dans la spore, bien avant la production des corps falciformes, indique qu'il ne résulte pas, comme on l'admet généralement, de la substance non employée à la formation de ces corps; son origine et son évolution n'étant pas encore bien connues, il conviendrait mieux, je crois, de le désigner provisoirement sous le nom de *globule central*.

Dans ses *Leçons sur les Sporozoaires*, M. le professeur Balbiani avait, en 1883, émis l'hypothèse que la sporulation des Grégarines devait être analogue à la segmentation de l'œuf des Insectes. La simple inspection de la *fig. 13* prouve combien cette manière de voir était fondée. Mes recherches confirment aussi pleinement, en les complétant, les résultats généraux énoncés par M. Aimé Schneider (1) sur la genèse des spores et des corpuscules falciformes soit dans les Grégarines, soit dans les Coccidies; elles établissent en outre l'existence de la karyokinèse chez les Sporozoaires, et elles démontrent une fois de plus la généralité du processus de la division indirecte du noyau.

---

(1) A. Schneider, *Un mot à M. Ruschhaupt et Conférence sur la parenté des Coccidies et des Grégarines* (*Tablettes zoologiques*, t. I, 1886).



SPORULATION DE LA GREGARINE DU LOMBRIC.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Dans les différentes figures les lettres ont la même signfication :

c a Corps amylacés.
c h Grains chromatiques.
c s Cellules à spores.
f Corps falciformes.
k k' k'' Kystes de *Monocystis*.
m Masses protoplasmiques de réserve.
n Noyaux.
n' Noyaux en voie de division.
n r Noyau de reliquat.
s p Spores.

Fig. 1. Fragment d'une coupe du testicule du Lombric renfermant des kystes du *Monocystis* à différents degrés de développement. *K'* kystes à macrospores, *K''* kystes à microspores. Gross. 100 d.

Fig. 2. Kystes de *Monocystis*, traité par le violet de gentiane et l'éosine, montrant les grains amylacés colorés. Gross. 250 d.

Fig. 3. Fragment de kyste renfermant des grains amylacés de différentes grosseurs. Gross. 1.200 d.

Fig. 4. Fragment de kyste renfermant des grains amylacés non colorés et des noyaux libres. Ce fragment montre la paroi du kyste et la membrane interne.

Fig. 5. Grégarine récemment enkystée, colorée par le carmin au borax. Le réseau protoplasmique est seul visible. Gross. 250 d.

Fig. 6, 7, 8 et 9. Stades de la transformation du noyau avant sa division.

Fig. 10. Kyste renfermant deux noyaux au repos. Gross. 250 d.

Fig. 11. Kyste divisé en deux parties et renfermant des noyaux au repos et un noyau en voie de division. Gross. 250 d.

Fig. 12. Kyste divisé en deux parties. Les noyaux ont émigré à la périphérie.

Fig. 13. Kyste plus avancé présentant une couche de cellules à spores.

Fig. 14. Kyste renfermant des spores et des masses protoplasmiques de réserve avec des noyaux. Gross. 250 d.

Fig. 15 et 16. Kystes à microspores. Gross. 250 d.

Fig. 17. Kyste contenant des masses chromatiques résultant de la dégénérescence des noyaux. Gross. 250 d.

Fig. 18 à 23. Stades de la formation des corps falciformes dans les macrospores. Gross. 1.200 d.

Fig. 24 à 27. Stades de la formation des corps falciformes dans les microspores. Gross. 1.200 d.



ACTION DES FERMENTS ALCOOLIQUES

sur les diverses espèces de sucre *(suite et fin)*

PAR

Le Dr Emil Chr. HANSEN
Chef du laboratoire de physiologie de Carlsberg (Copenhague)

IV. — Mucor.

Lorsqu'on entreprend une étude détaillée des nombreuses espèces appartenant à ce genre, on s'aperçoit, non seulement que peu d'entre elles ont été examinées jusqu'ici, mais que les descriptions dont elles ont fait l'objet sont en général insuffisantes pour permettre de décider avec certitude si une forme donnée a été ou non décrite; il règne même de l'incertitude sur le *Mucor mucedo* et le *Mucor racemosus,* espèces qui sont si souvent mentionnées dans les travaux scientifiques

Mucor erectus Bainier. — Sous ce nom, j'ai reçu de M. le Dr Eidam une moisissure qui s'accorde assez exactement avec les descriptions systématiques du *Mucor racemosus,* et qui, certainement, appartient aux espèces qu'on a confondues avec lui. M. Eidam l'a trouvée en juillet dans son laboratoire sur des pommes de terre pourries.

Le *Mucor erectus* appartient aux levûres alcooliques énergiques de ce genre et, sous certains rapports, l'emporte même sur la levûre basse ordinaire des brasseries. Cultivé dans le moût de bière, à la température ordinaire des appartements, il a donné :

Après	14 jours	1,7	vol. $^0/_0$	d'alcool.
—	1 mois $^1/_2$	6	—	—
—	2 mois $^1/_2$	8	—	—

Des cultures ananalogues, à 25° cent., ont donné :

Après 14 jours	1,8 vol. °/₀	d'alcool.	
— 1 mois 1/2	5,8	—	—
— 2 mois 1/2	7	—	—

Contrairement à ce que nous avons observé sur le *Monilia candida*, une température plus élevée n'a donc pas augmenté le pouvoir fermentatif de cette espèce.

Comme on pouvait s'y attendre, il détermine également la fermentation alcoolique dans les dissolutions de maltose, mais non dans celles de saccharose, qu'il n'intervertit pas non plus.

Dans une dissolution de dextrose à 10 °/₀, dans l'eau de levûre, il a fourni :

Après 4 jours,	1,8 vol. °/₀	d'alcool.	
— 15 —	3,5	—	—

Mucor spinosus Van Tieghem. — Sous ce nom, M. Van Tieghem désigne un Mucor dont la columelle est munie de saillies en forme d'épines souvent irrégulières.

Dans des expériences faites à 22° cent., avec du moût de bière comme liquide nourricier, il a donné :

Après 4 jours,	0,5 vol. °/₀	d'alcool.	
— 1 mois,	2,8	—	—
— 2 —	4	—	—
— 5 —	4,8	—	—
— 6 — 1/2	5,4	—	—

Dans une autre culture analogue, on a trouvé, après un an de repos, à la température ordinaire d'une chambre, 5,5 vol. °/₀ d'alcool. — M. Gayon dit que le *Mucor spinosus* ne peut produire plus de 1 à 2 vol. °/₀ d'alcool dans le moût de bière; la différence entre ses déterminations et les miennes doit sans doute tenir à la circonstance qu'il n'a pas poursuivi assez longtemps son expérience.

Une culture dans une dissolution de maltose a donné rapidement des signes bien distincts de fermentation, et, après 8 mois, 3,4 vol. °/₀ d'alcool.

Dans les dissolutions de sucre de canne, il n'a produit ni fermentation, ni inversion.



Après avoir été cultivé pendant 16 jours à 25° cent., dans une solution de dextrose à 10 °/₀ dans l'eau de levûre, il a produit 2 vol. °/₀ d'alcool.

Cette espèce a donc montré, dans tous les essais, une énergie fermentative inférieure à la précédente.

Mucor mucedo L. — La végétation avec laquelle j'ai fait mes expériences a été prise sur du crotin frais de cheval.

Après 15 jours de culture à 23° cent., dans du moût de bière, elle donne 0,4 vol. °/₀ d'alcool. Dans une culture analogue, mais faite à la température ordinaire d'un appartement, on a trouvé :

Après 2 $^3/_4$ mois, 1 vol. °/₀ d'alcool,
6 — 3 — — —

Un ballon de cette culture, au bout de un an de séjour dans le laboratoire, n'en renfermait que 3,1 vol. °/₀; la formation d'alcool semble donc, dans ces circonstances, avoir atteint son maximum. Elle a pu produire une fermentation faible, mais appréciable dans un liquide nourricier composé de 5 °/₀ de maltose dans l'eau de levûre. Dans une dissolution de dextrose à 10 °/₀, dans l'eau de levûre, elle a accusé :

Après 15 jours, à 25° cent., 0,5 vol. °/₀ d'alcool,
45 — — — 0,8 — — —

Elle n'a pas développé d'invertine et n'a pas provoqué la fermentation des solutions de saccharose ; mais, comme plusieurs autres espèces de Mucor, elle y a produit une végétation vigoureuse.

D'après les recherches qui précèdent, cette espèce appartient aux levûres alcooliques faibles. Les quantités d'alcool que j'ai recueilli avec le moût de bière et les dissolutions de dextrose s'accordent bien avec celles que MM. Brefeld et Fitz ont indiquées. Quant à son action sur la maltose, le présent mémoire est le premier qui en ait parlé.

Nous passons maintenant à une espèce qui se distingue nettement des précédentes par la propriété de produire de l'invertine.

Mucor racemosus, Fres. — Cette espèce est, comme la précédente, très répandue et a des habitats analogues.

Dans des cultures pratiquées avec moût, à la température ordinaire d'un appartement, elle a fourni :

Après 14 jours, 1,3 vol. % d'alcool,
3 mois, 4,7 — — —
12 — 7 — — —

Comme il fallait le prévoir, elle fait aussi fermenter la maltose, mais elle produit tout aussi peu que les autres espèces de Mucors des phénomènes bien marqués de fermentation dans une solution de ce sucre.

Dans une eau de levûre chargée de dextrose à 10 %, elle a donné, à 25° cent.,

Après 14 jours, 1,5 vol. % d'alcool,
1 ½ mois, 2,6 — — —

Il a été dit plus haut qu'elle développe de l'invertine; par suite, elle peut aussi transformer le sucre de canne en sucre interverti et le faire alors fermenter.

Dans une expérience exécutée à 25° cent., avec 10 % de sucre de canne dans l'eau de levûre, on a trouvé :

Après 14 jours, 1,1 vol. % d'alcool,
1 ½ mois, 2,3 — — —

Mes résultats s'accordent assez exactement, autant qu'une comparaison est possible, avec ceux de MM. Pasteur et Fitz. De même que ce dernier, et, plus tard, de même que M. Brefeld, j'ai également observé que le *Mucor racemosus* développe de l'invertine. L'exactitude de ce caractère a cependant été mise en doute par des physiologistes français.

Avec le *Mucor racemosus,* j'ai aussi trouvé une autre espèce ou variété d'espèce qui développe de l'invertine. J'ai de même eu l'occasion d'entreprendre des recherches plus ou moins détaillées sur d'autres espèces que les précédentes. Quant aux points principaux, elles se comportent toutes comme les espèces du groupe ci-dessus décrit; aucune ne fait fermenter la lactose, ni la saccharose, et ne développe de l'invertine; elles produisent toutes une

fermentation nettement accusée dans les dissolutions de dextrose et de maltose, mais quelques-unes cependant ne donnent que de faibles quantités d'alcool.

Résultats. — Relativement à son action sur les sucres, ce genre se distingue donc en ceci, que la plupart de ses espèces ne développent pas de l'invertine, et que toutes, en tant qu'elles provoquent une fermentation alcoolique nettement accusée, font fermenter la maltose; leurs fermentations sont lentes, et ce n'est qu'après un temps relativement long qu'elles produisent leur quantité maximum % d'alcool. Si nous comparons le pouvoir fermentatif de ces espèces, nous constatons aisément qu'il existe entre elles une grande différence. Parmi celles qui ont été le mieux étudiées, le *Mucor erectus* et le *Mucor mucedo* sont situés à cet égard aux deux points extrêmes. Tandis que le premier a pu donner dans le moût de bière jusqu'à 8 % d'alcool, le second n'en a produit que 3; plusieurs Mucor sont, sous ce rapport, au-dessous de ce dernier, et quelques-uns, à proprement parler, ne doivent pas être rangés dans les levûres alcooliques.

Les levûres vigoureuses qui appartiennent à ce genre envoient généralement, pendant la fermentation, leur mycélium, leurs chlamydospores et leurs cellules à la surface du liquide, et produisent, par conséquent, des phénomènes de fermentation haute. Aucune de ces espèces n'est employée dans l'industrie.

V. — **Oïdium lactis** Fres.

De même que quelques-unes des espèces mentionnées dans les pages qui précèdent, celle-ci ne peut non plus, à vrai dire, être rapportée aux levûres alcooliques; en tout cas, elle ne donne pas de fermentation bien accusée dans les circonstances où il s'en produit de très accentuées avec des Saccharomyces ou d'autres levûres alcooliques typiques.

Après 2 jours de culture dans le moût de bière, à 25° cent., le liquide ne donnait encore ni la réaction de

l'iodoforme, ni les condensations en stries ou larmes indiquées par M. Pasteur; ce n'est qu'au bout de 5 jours que ces réactions ont montré qu'il s'était formé des traces d'alcool. Un dégagement sensible d'acide carbonique, avec formation d'écume, n'a été observé ni dans cette expérience, ni dans les suivantes.

Cette espèce fait tout aussi peu fermenter les solutions de maltose et de saccharose que celles de lactose. Elle ne développe pas non plus d'invertine.

Une culture à 10 °/₀ de dextrose dans l'eau de levûre, exposée pendant 4 jours à la température de 25° cent., n'a donné aucun signe de formation d'alcool ; après 7 jours, on a enfin constaté une forte réaction avec l'iodoforme et une faible avec le procédé de M. Pasteur.

M. Brefeld est en somme arrivé au même résultat (1).

VI. — **Récapitulation.**

Arrivé à la fin de cette série de recherches, nous essaierons, comme c'est notre habitude, d'en résumer les principaux résultats sous une forme facile à embrasser.

Nous avons appris, relativement au genre Saccharomyces, que les espèces dont il se compose se divisent en deux groupes principaux, suivant qu'elles développent de l'invertine et produisent la fermentation alcoolique, ou ne possèdent pas ces propriétés; dans ce dernier groupe, il n'a été trouvé qu'une seule espèce, le *Sacch. membranæfaciens*. Toutes les espèces du premier groupe produisent une fermentation alcoolique, active dans les dissolutions de saccharose et de dextrose, et développent de l'invertine; elles se subdivisent en deux sections, la première n'en compte qu'un petit nombre *(Sacch. Marxianus, Sacch. exiguus)*, et quelques autres qui ne font pas fermenter la maltose, tandis que la seconde section, qui compte les espèces capables de

(1) De même que pour tant d'autres microorganismes, les opinions sont très partagées sur la nature de cette espèce. Mes travaux antérieurs sur ce sujet se trouvent dans le *Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg* (Vol. I, 2 liv. 1879, p. 75 et vol. I, 4 liv. 1882, p. 214).

déterminer la fermentation active de ce sucre, les comprend en majorité.

Dans le chapitre suivant nous avons, pour des raisons pratiques, comparé une série d'espèces appartenant à différentes divisions systématiques encore indéterminées. Comme caractère commun, leur bourgeonnement ressemble à celui des Saccharomyces et elles sont dépourvues d'endospores. Au point de vue physiologique, elles se distinguent de ce genre en ce qu'une seule de ces nombreuses espèces, le *Monilia candida,* peut faire fermenter la maltose, cependant sans grande énergie. Les espèces qui n'ont pas d'invertine, et celles dont le pouvoir fermentatif est très faible ou nul, sont fréquentes. Plusieurs produisent une forte fermentation dans les dissolutions de dextrose et de sucre interverti, et l'on a observé chez le *Monilia candida* la propriété remarquable de faire fermenter la saccharose comme telle, c'est-à-dire sans inversion préalable. Si nous considérons ces deux fonctions, production d'invertine et fermentation, nous remarquons que ces microorganismes présentent à cet égard toutes les combinaisons possibles; il y en a quelques-uns qui ne remplissent aucune de ces fonctions, d'autres chez qui elles sont toutes deux réunies, et d'autres enfin chez qui l'une d'elles se trouve et l'autre fait défaut.

Le troisième groupe que nous avons étudié ne comprend, comme le premier, que des espèces appartenant à un seul genre, le genre *Mucor*. Au point de vue physiologique, ces espèces se divisent en deux groupes bien tranchés, suivant qu'elles renferment de l'invertine ou sont privées de la faculté de sécréter ce ferment. Elles se distinguent en ceci que, en tant qu'elles produisent une fermentation alcoolique nettement accusée, elles font aussi fermenter la maltose, quoique, à la vérité, assez faiblement. De même que dans le groupe précédent, elles présentent de très grandes différences dans leur pouvoir fermentatif, et comprennent des espèces qui, véritablement, ne méritent pas d'être considérées comme des levûres alcooliques.

L'*Oïdium lactis* appartient également à cette dernière catégorie.

L'examen de ces microorganismes, au point de vue de

leurs rapports avec l'industrie, fait ressortir nettement ce fait, que le genre Saccharomyces seul renferme des espèces qui peuvent produire, dans les dissolutions de maltose, une fermentation rapide et énergique. Le moût de bière et le moût des distilleries, comme on sait, contiennent principalement cette espèce de sucre. Les brasseries et les distilleries doivent donc chercher leurs levûres parmi les vrais Saccharomyces, mais ces études nous ont encore appris que toutes les espèces ne peuvent pas exécuter le travail chimique dont on a besoin, et qu'il faut faire entre elles un choix méthodique. On trouvera dans un de mes mémoires (1) quels importants résultats pratiques ont été obtenus par ce moyen.

Les microorganismes qui ressemblent aux Saccharomyces, mais qui sont dépourvus d'endospores (par conséquent différents des Saccharomyces), dont il a été question dans le chapitre troisième, et qui, à une exception près, ne font pas fermenter la maltose, ne peuvent guère être appelés à jouer un rôle important dans les brasseries et les distilleries, mais bien dans la fabrication du vin de raisins et d'autres fruits, puisqu'il en existe plusieurs qui, dans les dissolutions de dextrose et de sucre inverti, provoquent une fermentation tout aussi active que les Saccharomyces. Parmi les principales levûres qui déterminent la fermentation du vin, il y en a probablement quelques-unes qui appartiennent à ce groupe. Mais cette question, si importante pour l'industrie vinicole, n'a pas encore été étudiée, et on ne peut donc, actuellement, rien avancer de positif à cet égard. M. Pasteur, qui a le mieux étudié ces questions, n'a pu donner aucun renseignement sur ce point, car il ne spécifie nulle part les différences qui distinguent les Saccharomyces des pseudo-Saccharomyces.

Relativement aux espèces du genre *Mucor*, je ferai seulement remarquer qu'aucune n'est employée dans l'industrie, non plus que l'*Oïdium lactis*.

Après avoir considéré les précédentes levûres dans leur

---

(1) Hansen, *Recherches faites dans la pratique de l'industrie de la fermentation* (*Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg*, IIe vol., 5e liv., 1888, p. 168).

action sur les quatre espèces de sucre, il n'est pas sans intérêt d'examiner comment chacun de ces sucres se comporte.

Nos expériences montrent qu'il n'existe pas d'exemple que la maltose ait subi quelque transformation par l'action de l'invertine des microorganismes (la plupart des Saccharomyces et le *Mucor racemosus*); dans les cas où il s'est produit une fermentation, nous devons donc admettre qu'elle a été directe, d'autant plus que plusieurs des espèces qui font fermenter ce sucre ne renferment pas d'invertine (*Monilia candida* et toutes les levûres alcooliques jusqu'ici examinées du genre *Mucor*, à l'exception du *Mucor racemosus*). Souvent il ne se produit aucune fermentation de ce sucre (*Sacch. Marxianus, Sacch. exiguus* et quelques autres Saccharomyces, le *Sacch. apiculatus* et les espèces du genre *Torula*).

Relativement à la saccharose, nous avons vu que, sous l'action des levûres alcooliques, elle fermente, soit directement, sans inversion préalable (*Monilia candida*), soit indirectement après avoir été transformée en sucre interverti (la plupart des Saccharomyces, quelques espèces de Torula et le *Mucor racemosus*), ou ne fermente pas du tout (*Sacc. apiculatus*, quelques espèces de *Torula* et la plupart des espèces du genre *Mucor*).

La troisième espèce de sucre, la dextrose, est la seule que toutes nos levûres alcooliques aient, sans exception, fait fermenter, et, dans les cas où une comparaison a été établie, nous avons toujours constaté qu'elle fermentait plus rapidement et avec plus d'énergie que la saccharose et la maltose. Cette observation a aussi son intérêt pour les méthodes de culture, car il en résulte que, lorsqu'il s'agit de cultiver quelque espèce inconnue, on est plus sûr d'arriver au but en employant la dextrose.

Pour ce qui regarde la lactose, nous avons déjà relevé au commencement de ce mémoire que, parmi toutes les levûres alcooliques jusqu'ici connues, il n'y en a qu'une seule qui la fasse fermenter.

Il est évident que ces résultats acquis peuvent avoir leur importance pour la chimie analytique, par exemple, lorsqu'il s'agit d'analyser des dissolutions renfermant plu-

sieurs espèces de sucre. On ne possède encore aucune détermination exacte, ni qualitative, ni quantitative, du contenu en sucre du moût de bière. Dans les ouvrages de zymotechnie, il n'est question que de la maltose, et tout le sucre est rapporté à cette espèce. Cependant les chimistes qui ont fait des recherches sur ce sujet savent tous que ce fait n'est pas exact. Si nous considérons la série des levûres alcooliques qui ne font pas fermenter les dissolutions de maltose (*Sacch. Marxianus, Sacch. exiguus, Sacch. apiculatus,* et les espèces de *Torula*), nous voyons que, dans le moût de bière employé dans nos expériences, elles ont en général produit 1 vol. $^0/_0$ d'alcool. La quantité correspondante de sucre est ordinairement comptée comme appartenant à la maltose, ce qui, naturellement, est inexact. On pourrait, du moins dans plusieurs cas, obtenir un résultat plus voisin de la réalité, en s'aidant des levûres alcooliques que nous avons mentionnées.

Une des principales questions qui reviennent dans toutes mes études sur les levûres alcooliques est celle des espèces et de leur délimitation. Elle a également, dans le présent mémoire, été l'objet d'une attention spéciale. Nous avons vu que les espèces d'un même genre peuvent aussi, dans leur action sur les sucres, présenter des différences constantes et bien accusées, et il en a été donné des exemples dans chacun de nos trois grands groupes.

Nous avons ainsi obtenu des preuves nombreuses que les levûres alcooliques se comportent à cet égard d'une manière différente. Les différences observées trouvent, dans quelques cas, une explication provisoire dans la circonstance que telle ou telle levûre développe de l'invertine ou ne secrète pas ce ferment ; mais, le plus souvent, nous ne pouvons en donner aucune explication et nous en sommes réduit à observer purement les faits. Aussi peu nous comprenons pourquoi deux cellules microscopiquement identiques peuvent cependant être si différentes dans leur activité physiologique que l'une d'elles, par exemple, développe de l'invertine et l'autre non, aussi peu sommes-nous en état de concevoir pourquoi une cellule de levûre peut faire fermenter la maltose, tandis qu'une autre, d'un aspect tout semblable, ne le peut pas ; en un mot,

notre science ne nous permet pas de mettre les fonctions en rapport avec les caractères de la cellule elle-même. Aucune des théories qu'on a données jusqu'ici de la fermentation ne nous renseigne sur ces questions fondamentales. Ce sont là de grands problèmes, encore entièrement obscurs, sur la nature du protoplasme que nous heurtons ici, mais des problèmes qui ne sauraient être soustraits plus longtemps aux recherches expérimentales. On ne saurait guère non plus imaginer de sujet se prêtant mieux à une pareille étude que les cellules de levûre, dont la structure est si simple et les fonctions relativement peu nombreuses. Vues de près, les recherches faites jusqu'ici se meuvent donc toujours encore à la surface, et n'acquièrent une portée réellement grande qu'autant qu'elles constituent des travaux préliminaires pour les découvertes à venir.

SUR UN NOUVEAU THERMO-RÉGULATEUR

PAR

Le Dr P. MIQUEL

J'ai déjà décrit succinctement dans l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris,* pour l'an 1888, page 598, un appareil applicable au réglage de la température des étuves à air un peu vastes, telles qu'on est contraint d'en adopter dans les laboratoires où l'on pratique de nombreuses cultures bactériennes. J'ai achevé aujourd'hui l'étude de ce nouvel appareil qui fonctionne très convenablement et qui possède les qualités qu'on est en droit d'exiger d'un bon thermo-régulateur.



Fig. 1. Thermo-régulateur à 1/10 de grandeur vu de face.

Description de l'appareil. — Cet instrument consiste en une plaque de marbre de $1^m 10$ de hauteur sur $0^m 20$ de largeur, encastrée dans une forte planche de bois de chêne (Voir *fig. 1*). Sur cette plaque de marbre sont étendues deux barres de zinc *ZZ ZZ* de 1 mètre environ de hauteur sur $0^m 03$ de largeur et 15^{mm} d'épaisseur. Ces lames, appuyées contre des galets cylindriques, sont agencées de la façon suivante : la lame *ZZ*, placée à droite dans le dessin, est gouvernée à son extrémité inférieure par une forte vis *V* tournant à frottement doux, mais sans progresser, dans une borne métallique scellée au marbre; la vis, en tournant sur elle-même, communique à cette première barre de zinc, munie d'un pas de vis femelle, un mouvement de hausse ou de baisse très lent. L'extrémité

supérieure de cette barre s'articule à un court levier *H* pivotant sur un tourillon fixé au marbre. A l'extrémité de ce levier est pendue la seconde barre de zinc qui descend parallèlement à la première et actionne, par son extrémité inférieure, un levier coudé *L A* en bronze comme d'ailleurs le levier *H* et toutes les pièces articulées de l'appareil.

La longue branche *A* du levier *L A* est libre, c'est-à-dire qu'elle peut se mouvoir à droite et à gauche suivant que, sous l'influence du chaud et du froid, le zinc se dilate ou se contracte. L'extrémité de ce levier massif peut être munie d'une longue aiguille, pour rendre plus appréciable ses écarts et les enregistrer au besoin sur un cylindre tournant horizontalement. La tête de la branche du levier *A* sur laquelle est implantée cette aiguille est armée latéralement de deux tranchants mousses destinés à écraser deux tuyaux de caoutchouc. L'un de ces tuyaux, celui de gauche, amène le gaz; l'autre, celui de droite, est destiné à conduire l'eau froide sous une faible pression. Vis-à-vis de ces deux couteaux sont placés deux forts ressorts d'acier, *I* et *J*, buttant sur des chevilles métalliques et supportant à leur extrémité libre deux plans résistants dont on peut faire varier la distance du tranchant des deux couteaux au moyen des vis *I* et *J*.

Les vis *I* et *J* sont des vis de réglage.

La vis *V* sert surtout à ramener la grande branche du levier coudé *L A* dans la ligne médiane, quand, sous l'influence de la température, cette branche penche trop fortement vers l'un des deux ressorts.

La manœuvre de cette vis remplace dans ce thermo-régulateur l'excès d'eau ou de mercure qu'il faut ajouter ou retrancher aux appareils d'Arsonval ou de Schlœsing, pour atteindre approximativement la température à laquelle on veut voir ces régulateurs fonctionner.

Les vis *I* et *J* qui commandent directement l'écrasement des tubes de caoutchouc trouvent leur usage quand cette température est atteinte, et servent alors à faire varier la chaleur de l'étuve de dixième en dixième de degré.

La *fig. 2* présente mon régulateur vu de côté. Les pinces PP' maintiennent solidement deux tubes de verre, entre lesquels sont légèrement tendus les tubes en caoutchouc destinés à être écrasés. C'est aux extrémités externes de ces tubes de verre qu'on fixe les tuyaux destinés à conduire soit le courant d'eau EE', soit le courant de gaz GG'.

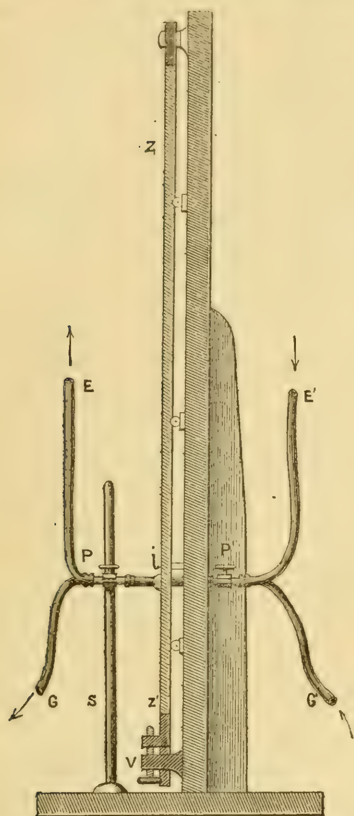


Fig. 2. Thermo-régulateur à 1/10 de grandeur vu de côté.

Enfin, le thermostat est placé verticalement dans l'étuve à régler, les zinc ZZ, ZZ se dilatent suivant la température *moyenne* des couches d'air qui les baignent, et l'expérience démontre que ce réglage est d'une précision remarquable, alors même que l'étuve se compose d'une simple armoire séparée sur cinq de ses faces de l'atmosphère ambiante par du verre d'épaisseur ordinaire, et que l'étuve est placée aux intempéries extérieures (1).

Théorie du thermo-régulateur. — D'une part, le coefficient de dilatation linéaire du marbre noir étant environ égal à $0^{mm}005$, d'après les recherches de Duun, Sang et Destigny; d'autre part, le coefficient de dilatation linéaire du zinc s'élevant à $0^{mm}03$, il résulte que le zinc se dilate 5 fois plus que le marbre noir. Donc, pour l'élévation d'un degré centigrade de chaleur, deux barres de marbre et de zinc d'un mètre de longueur s'allongeront respectivement de $\frac{5}{1000}$ et de $\frac{3}{100}$ de millimètre. Le zinc, la dilatation

(1) C'est à la maison Fontaine, de Paris, que j'ai confié la construction de mon thermostat.

du marbre déduite, s'allongera dans ces conditions de $\frac{1}{40}$ de millimètre pour un degré. Cet accroissement de longueur m'a paru trop faible pour pouvoir être utilisé directement dans un régulateur basé sur la dilatation des métaux ; mais en multipliant cette dilatation par 3 et par 6 au moyen des leviers *H* et *L A* (voir *fig. 1*), la barre de zinc de droite fournit un allongement de $\frac{18}{40}$ de millimètre, qui, totalisés avec les $\frac{6}{40}$ de millimètre de dilatation de la barre de gauche, donnent, pour *un* degré, une excursion des couteaux de $\frac{6}{10}$ de millimètre, amplitude plus que suffisante, comme on va le voir tout à l'heure. L'appareil que j'ai entre les mains ne fournit pas ce rendement théorique, peut-être parce que le rapport entre la dilatation du zinc ou du marbre gris dont il est formé n'est pas exactement égal à 5, peut-être parce qu'il existe un jeu léger dans les articulations. D'après les calculs déduits d'une centaine d'observations micrométriques, l'excursion des couteaux pour un degré a été trouvée voisine de $\frac{4,2}{10}$, soit un peu moins de 1/2 millimètre. Néanmoins, l'appareil se trouve encore dans d'excellentes conditions pour fonctionner.

On a déjà compris le parti qu'on peut tirer de ce système : si le gaz, source de chaleur, arrive avec un débit tendant à élever la température de l'enceinte où se trouve placé le régulateur, l'aiguille marche à gauche, comprime la conduite flexible, et diminue le nombre de calories produites, jusqu'à ce qu'il s'établisse un équilibre permanent entre les causes de refroidissement et l'appareil producteur de la chaleur. Les causes de refroidissement sont généralement la température extérieure, quand l'étuve est chauffée vers 30° ou 40°; on pourrait encore l'accélérer par un courant d'eau froide, mais, dans ce cas particulier, ce serait sans aucun bénéfice et non sans inconvénient. Si, au contraire, pendant les chaleurs de l'été, on désire maintenir la température de l'étuve vers 20°, quand la température extérieure se maintient au-dessus de 20°, ou éprouve des variations diurnes pouvant aller de 15° à 25°, il est indispensable d'avoir recours à l'eau froide; le jeu de l'aiguille régulatrice est ici de même aisé à saisir : quand la tempé-

rature de l'étuve s'élève, le couteau se porte à gauche, et l'eau froide abonde dans les caisses réfrigérantes; si cette température s'abaisse, le couteau se porte à droite, écrase la conduite d'eau, qui ne débite plus que faiblement, tandis qu'un bec de gaz à faible débit devient une source de chaleur qui supplée au réchauffement devenu négatif de l'atmosphère extérieure.

Je reviendrai d'ailleurs, dans un article spécial, sur les avantages pratiques qu'on peut retirer de ce nouveau thermo-régulateur; mon intention est surtout, aujourd'hui, d'en donner la description, de faire connaître le jeu de ses organes et d'établir ses moyens d'action.

Résultats empiriques. — On sait que l'analyse mathématique permet de résoudre, avec le seul secours des chiffres, la plupart des questions relatives au mouvement des gaz et des liquides dans des tuyaux soumis ou non à des déformations déterminées. J'ai, dès le début de mes recherches, essayé ce mode d'investigation qui m'a fourni, je dois malheureusement l'avouer, des indications trop divergentes avec les phénomènes qui se passent en réalité; pour ce motif, j'ai dû m'en rapporter aux données de l'expérience pure.

A. — Considérons une conduite cylindrique de caoutchouc de 5 à 6 millimètres de diamètre intérieur, alimentant une rampe à gaz circulaire; supposons que cet appareil de chauffe, en communication avec une canalisation de gaz accusant 42 mil. d'eau de pression constante, débite 355 litres de gaz à l'heure; puis, sur un point de cette conduite reposant sur un plan résistant, produisons perpendiculairement à l'axe un écrasement progressif du tube, au moyen d'un coin intimement lié à une vis micrométrique permettant aisément d'apprécier une progression égale à un centième de millimètre.

Dans ces conditions, on observe qu'il faut écraser le tube de plusieurs millimètres avant de noter une diminution sensible dans le volume de gaz consommé. Dans l'expérience choisie, la compression ne produit d'effet utile que lorsque le petit axe de la section ovalaire du tube est réduit environ à 1 millimètre de hauteur. L'écrasement d'un

simple millimètre suffit donc à faire varier le volume du gaz débité de 355 à 0 litre à l'heure. Etudions toujours avec l'exemple choisi les effets successifs de cet écrasement.

1 millimèt.	avant l'écrasement	complet,	débit 355	litres	à l'heure.	
1/2 mm	—	—	—	débit 260	—	—
1/4 mm	—	—	—	débit 120	—	—

Si une progression de 1/2 mm du couteau ou du coin réduit le débit de 75 litres, une seconde progression de 1/2 mm l'abaisse de 260 ou le réduit à néant. L'effet de ce dernier écrasement est donc 3 fois plus fort que l'effet du premier. C'est sur ce point que je voulais attirer l'attention, afin de montrer que les compressions du tube de caoutchouc sont surtout efficaces à quelques dixièmes de millimètres du point de l'extinction totale des brûleurs. Il revient à dire que, dans mon thermostat, l'écrasement des tubes doit être réglé de façon qu'aux plus *petites* variations de l'aiguille correspondent les plus *grandes* variations dans le gaz écoulé.

Les courbes représentées dans le diagramme *fig. 3* expri-

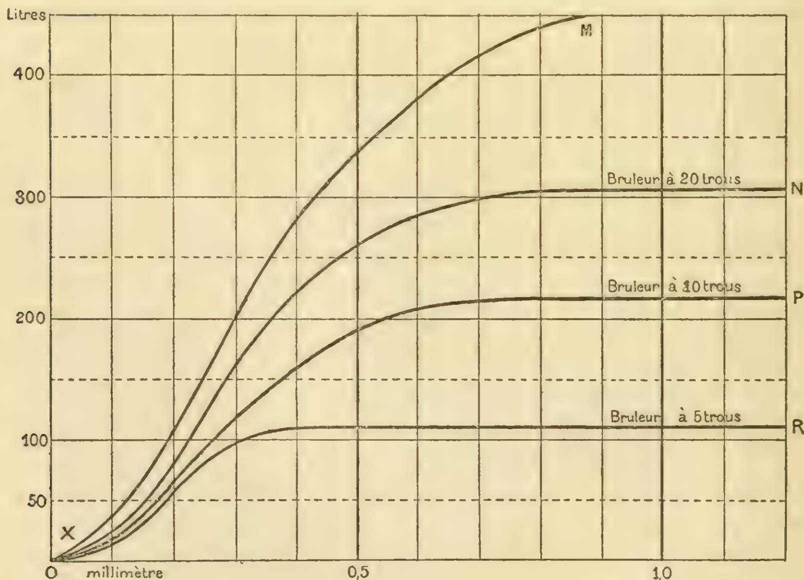


Fig. 3. Courbes exprimant la quantité de gaz consommé par divers brûleurs dont le tube d'alimentation est soumis à un écrasement progressif.

ment d'ailleurs ces variations de vitesse d'écoulement avec tous les détails désirables. Les divisions en hauteur indiquent le débit du gaz en litres, à l'heure; les divisions de la ligne des abcisses (0^{mm} à $1^{mm},2$), l'écrasement du tube en fractions de millimètres.

La courbe *XM* figure le débit d'un jet de gaz s'échappant d'un tube de caoutchouc à ouverture libre (non munie de brûleur), soumis à un écrasemrnt progressif ($P = 41^{mm}$ d'eau; débit maximum à l'heure, 530 litres).

La courbe *XN* exprime le débit du même tube de caoutchouc soumis à l'écrasement, mais alimentant un brûleur à 20 trous ($P = 41^{mm}5$; débit maximum à l'heure, 325 litres).

La courbe *XP* est celle que donne le tube de caoutchouc adapté à un brûleur à 10 trous ($P = 41^{mm}$ d'eau; débit maximum à l'heure, 240 litres).

Enfin, la courbe *OD* exprime le débit fourni par le même tube de caoutchouc, alimentant un brûleur 5 trous ($P = 42^{mm}$ d'eau; débit maximum à l'heure, 115 litres).

Pour un même écrasement du tube de caoutchouc on augmente et on restreint donc considérablement le volume du gaz consommé, en multipliant ou en diminuant les ouvertures du même brûleur; cette remarque trouve son application quand on veut par exemple maintenir élevée en hiver la température des étuves sans toucher à l'aiguille du régulateur.

On déduit également des courbes représentées dans la *fig. 3*, que les plus grandes variations dans le débit correspondent aux écrasements compris entre le 2me et le 4me dixième de millimètre.

B. — Les liquides circulent dans les tuyaux écrasés, suivant les lois qui régissent l'écoulement du gaz. Les courbes du diagramme *fig. 4*, où les divisions verticales expriment le nombre de litres d'eau écoulés à l'heure, en font suffisamment foi. Cette même figure démontre que les écrasements faibles compris entre 0,2 et 0,4 millimètres sont encore ici les plus efficaces.

Si, pour le gaz à éclairage, il est en général plus simple d'augmenter la vitesse de l'écoulement, ou le volume consommé, en multipliant ou agrandissant les issues, pour

l'eau employée à la réfrigération il est plus commode de faire varier la pression.

Toutes choses égales d'ailleurs :

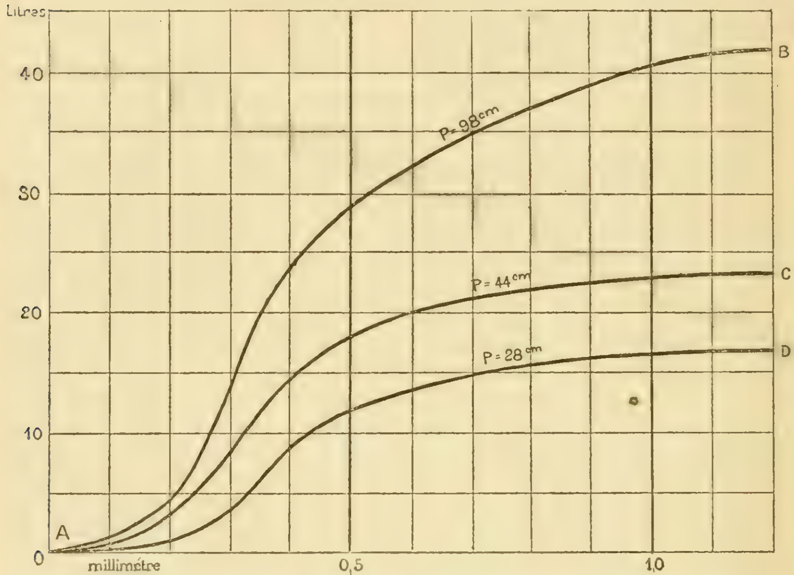


Fig. 4. Courbes exprimant les quantités d'eau écoulées sous diverses pressions à travers un tube élastique soumis à un écrasement progressif.

La courbe *A D* représente l'effet d'un écrasement progressif sur une conduite d'eau de 4 à 5 ^{mm} de diamètre, et sous une pression de 28 ^{cm} d'eau (débit maximum à l'heure, 17 ^{lit} 500).

La courbe *A C* exprime le même effet sous une pression de 44 ^{cm} d'eau (débit maximum à l'heure, 23 ^{lit} 800).

La courbe *A B* fournit le graphique du débit dans la même conduite sous 98 ^{cm} d'eau (débit maximum à l'heure, 41 ^{lit} 600).

Telles sont les données expérimentales sur lesquelles repose mon thermo-régulateur; on peut objecter qu'il est encombrant par ses dimensions longitudinales, mais, je l'ai déjà fait observé, il est destiné aux étuves vastes, et ses dimensions en hauteur lui permettent de prendre la température moyenne des diverses couches d'air, ce qui n'est pas un défaut, mais une qualité.

Mon thermostat est remarquable par la régularité de son action, il fonctionne pendant de longs mois sans présenter les plus faibles dérangements ; cette précieuse qualité, on doit l'attribuer d'abord à la simplicité de ses organes réduits à deux leviers du premier genre, et ensuite au principe même sur lequel il est basé, la dilatation étant une propriété physique de la matière aussi irrésistible qu'invariable pour une substance donnée. Cet instrument se recommande également par sa précision; la température de l'air des étuves qu'il règle varie à peine de quelques dixièmes de degrés, alors même, je le répète, que ces étuves sont à panneaux de verre et volontairement exposées aux intempéries extérieures, c'est-à-dire aux variations de grande amplitude de la température diurne de l'atmosphère.

Je reviendrai, dans une nouvelle note, sur cet instrument et sur quelques modifications qui le simplifient encore davantage. Je parlerai également des étuves à air à température sensiblement égale dans tous les points, condition qui n'a pas été réalisée et qu'il est loisible à tous d'obtenir par un mode de chauffage très simple, associé à une ventilation convenablement établie. Ce mode de chauffage, je puis le dire dès aujourd'hui, consiste à répartir la chaleur des appareils brûleurs sur une vaste surface, au moyen d'une grande plaque de fonte disposée à la base de l'étuve, et sur laquelle l'air arrive de l'extérieur. Cet air, parvenu à la partie supérieure de l'étuve, doit trouver des bouches assez nombreuses pour permettre son écoulement rapide à l'extérieur. Dans ce genre d'étuves, les cultures de l'étagère la plus inférieure et la plus élevée doivent posséder la même température qui se trouve être la température maximum; les cultures des étagères moyennes sont de un à un demi degré plus basses que celles des étagères extrêmes; il me reste d'ailleurs à donner de trop longs détails sur ces diverses questions pour qu'il me soit possible de les traiter aujourd'hui, mais je m'étendrai prochainement sur ce sujet, en apportant à l'appui de mes affirmations de nombreux diagrammes fournis par des thermomètres enregistreurs.

REVUES ET ANALYSES[1]

Paul Petit. — **Les Diatomacées du Cap Horn** (*Mission scientifique du Cap Horn, Botanique,* t. V, p. 111, 1888).

Dans le mémoire rédigé par M. Paul Petit pour faire connaître les résultats de ses études sur les Diatomées recueillies pendant la mission scientifique du Cap Horn en 1882-83, se trouvent deux listes comprenant 37 espèces d'eau douce et environ 200 espèces marines; parmi ces dernières figurent plusieurs espèces nouvelles: *Cocconeis Kerguelensis* et *Harioti, Amphora magellanica, Ledugeriana gemmifera* et *solsvigiensis, Navicula Hahni, Nitschia Wallichiana, Surirella Hyadesi, Synedra Savineti,* et quelques variétés encore inobservées d'espèces déjà décrites. Une planche représente très nettement ces nouveaux types.

On remarque premièrement, dans la liste des Diatomées marines, certaines espèces qui sont fort répandues dans l'Océan et se rencontrent à peu près sur tous les rivages : c'est donc pour ces espèces une nouvelle station de plus. Mais, ce qui nous semble intéressant à signaler, d'après les constatations faites par M. Petit, c'est d'abord que les Diatomées des eaux douces du Cap Horn ne diffèrent pas de celles de l'Europe, nouvelle preuve de leur présence dans les contrées les plus diverses de l'ancien et du nouveau continent; ensuite, que de rares espèces marines, récoltées dans les mers arctiques, par exemple : *Amphora lanceolata* Cleve, *Navicula glacialis* Cleve, *Cocconeis decipiens* Cleve, *Podosira hormoïdes* var. *glacialis* Grunow, se retrouvent dans le voisinage du Cap Horn, espèces, dit M. Petit, que l'on peut considérer comme polaires, puisqu'elles ne se rencontrent que dans les Océans arctique et antarctique. Or, on pourrait jusqu'à un certain point s'expliquer que la dispersion des Diatomées marines a été facilitée par les courants de la mer, ainsi que par le déplacement des poissons, des Cétacés et même des navires; mais on

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

s'expliquerait moins bien la distribution aussi générale qu'elle paraît l'être, dans toutes les contrées du globe, des mêmes espèces de Diatomées d'eau douce. Doit-on l'attribuer à une propagation primordiale qui se serait effectuée sur la surface de la terre, à l'origine des époques géologiques, et qui aurait laissé à peu près partout des individus de ces mêmes espèces? Certains types fossiles, encore vivants, permettraient sans doute d'émettre cette hypothèse à défaut d'autre. Mais il conviendrait avant tout d'expliquer de quelle façon aurait pu s'effectuer cette propagation primordiale, étant donné que les Diatomées ne peuvent sans péril être transportées hors de l'eau, qui est le milieu indispensable à leur existence.

E. R.

H. PERAGALLO. — **Les Diatomées de la baie de Villefranche** (*Bull. de la Soc. d'Histoire naturelle de Toulouse*, t. XXII, 1888, p. 13-100, pl. I-VI).

Cet important travail renferme, outre un catalogue très complet de la flore diatomique de Villefranche, une longue introduction sur laquelle portera seulement notre analyse.

Tout d'abord, l'auteur expose avec une grande précision et beaucoup de détails la méthode qu'il a employée pour recueillir les Diatomées contenues dans la vase rapportée par la drague. Ce procédé, que nous ne pouvons exposer dans son ensemble, consiste, en résumé, à tamiser la vase dans un tamis à mailles de 1^{mm} et à laver le résidu à l'acide chlorhydrique jusqu'à cessation d'effervescence, puis à enlever l'acide par lavages et décantations. Un lavage alcalin au carbonate de potasse ou de soude suit ce traitement, et c'est pendant ce lavage que l'on décante la plupart des impuretés qui restent en suspension dans l'eau. Ce traitement à l'acide et à l'alcali, répété plusieurs fois, finit par donner un résidu sableux assez riche en Diatomées pour permettre un triage mécanique par un procédé très ingénieux qui consiste à faire couler dans un tube légèrement incliné le mélange à trier, après avoir remplacé l'eau qui le baignait par de l'alcool; le sable reste dans le tube, et les Diatomées sont entraînées dans un verre qui les reçoit. Signalons encore toute une série de procédés pratiques pour le triage à la main et le rangement des Diatomées sur la lame.

La seconde partie de l'introduction contient une discussion du système de M. Petit, basé sur la disposition de l'endochrôme. Cette discussion ayant été composée avant l'apparition du volume du

Dʳ Pelletan, où M. Petit a retouché son système, l'auteur a ajouté à la fin de son travail une note dans laquelle il reprend l'examen de cette classification. Nous nous bornerons ici à dire que M. Peragallo, tout en reconnaissant la valeur réelle du nouveau caractère introduit dans la taxinomie de ces algues, lui conteste son caractère absolu en niant la subordination constante des autres caractères naturels à celui tiré de la disposition des phéoleucites.

F. D.

A. Giard. — **Sur les genres Folliculina et Pebrilla** *(Bulletin scientifique de la France et de la Belgique,* IIIᵉ série, 1ʳᵉ année 1888, p. 310-317, pl. xx).

M. le professeur Giard étudie quelques formes de Folliculines (Infusoires ciliés hétérotriches) qu'il a observées sur les côtes de France.

L'auteur a observé l'espèce connue, la *F. ampulla, Mueller.* Il a de plus découvert :

F. abyssorum. — Coque grande, d'un vert franc, tégument strié longitudinalement et transversalement, noyau ovoïde. Vit par les profondeurs de 30-50 mètres sur des objets immergés.

F. limnoria. — Coque terminée postérieurement par des expansions digitées caractéristiques. Couleur vert bleuâtre foncé. Vit sur les anneaux du pléon de *Limnoria lignorum.*

F. paranthura. — Taille plus grande de 0ᵐᵐ5 environ, coque sans digitation; vit sur les anneaux du pléon d'une espèce de *Paranthura.*

F. violacea. — Coque de couleur lilas, tirant sur le rose au violet foncé, à col droit avec un petit renflement annulaire unique à quelque distance de son embouchure. Vit sur les racines de *Laminaria flexicaulis.*

Pebrilla paguri. — Coque large étranglée en son milieu, noyau moniliforme. Vit sur l'abdomen des *Pagures* et y forme de petites colonies visibles à l'œil nu comme des taches noires.

F. D.

Henneguy.— **Influence de la lumière sur la phosphorescence des Noctiluques** *(Comptes rendus de la Société de Biologie,* 2 Nov. 1888, Nº 32).

M. le Dʳ Henneguy a constaté que la production de la phosphorescence chez les Noctiluques était contrariée par l'action de la

lumière solaire. Les Noctiluques, exposées au grand jour et portées ensuite dans le cabinet noir, ne commencent à briller qu'après une demi-heure de séjour dans l'obscurité. Reportées au jour pendant une heure, puis remises dans l'obscurité, elles ne recouvrèrent leur éclat qu'après un laps de temps de trois quarts d'heure. L'auteur a de plus constaté que la phosphorescence de la mer n'est complète que deux heures après le coucher du soleil. Ces faits confirment une observation semblable relative à la disparition de la phosphorescence des Microbes pendant le jour, et ne sauraient être attribués à la perte de sensibilité de la rétine sous l'influence de la lumière solaire, car M. Henneguy a écarté cette cause d'erreur en séjournant un temps suffisant dans le cabinet noir avant l'expérience.

F. D.

Cattaneo. — **Sur un Infusoire cilié parasite du sang du Carcinus Mœnas** (*Bolletino scientifico,* n° 1, Mars 1888).

Le Dr Cattaneo a trouvé, dans le système circulatoire d'un individu de *C. Mœnas,* un infusoire cilié holotriche qu'il rapporte au genre *Anophrys* Cohn, et qu'il dédie à M. le professeur Maggi. Voici la diagnose de cette nouvelle forme :

Anophrys Maggii n. sp. corps ovale, allongé (0,035—0,045 de long × 0,010 — 0,012 de large), arrondi postérieurement avec la partie antérieure pointue et recourbée en forme de rostre; cils antérieurs plus longs que les latéraux et les postérieurs; présence d'un noyau dans la région moyenne du corps et d'une vésicule contractile à la partie postérieure; ouverture buccale située sous le rostre et pourvue d'un cercle de cils, stries transversales et longitudinales non visibles ou peu distinctes.

L'*Anophrys Maggii* se nourrit des éléments du sang de son hôte; sa pénétration dans l'organisme doit, d'après l'auteur, s'effectuer par les blessures accidentelles et sa présence y est assez rare, puisque M. Cattaneo n'a observé qu'un seul *Carcinus* infesté sur 300 individus observés.

F. D.

Henri Blanc. — **La Gromia Brunnerii, un nouveau foraminifère** (*Recueil zoologique suisse,* t. IV, n° 4, 1888, p. 497-513. pl. xxiv).

La *Gromia Brunnerii* n. sp. vit dans le limon du fond du lac Léman. Ce limon, dragué au moyen d'une poche en toile presqu'im-

perméable, est abandonné pendant deux ou trois jours dans de petits cristallisoirs *à une basse température.* L'eau qui couvre le dépôt s'éclaircit peu à peu sans se putréfier, et l'on peut alors étudier la couche vivante qui se forme à la surface de celui-ci. La *Gromia Brunnerii* est un foraminifère monothalame de $0^{mm}2$ à 1^{mm} de diamètre, d'un jaune pâle terreux. La coque est épaisse, opaque, formée de corpuscules allongés reliés par un ciment. A l'intérieur de la coque épaisse il en existe une beaucoup plus mince, anhyste, transparente, élastique, difficile à mettre en évidence. L'être présente d'habitude un seul noyau qui est formé d'une membrane nucléaire épaisse, et d'un contenu chargé de granules de chromatine et de vacuoles claires. Le mode de reproduction de cette espèce est encore inconnu.

F. D.

Arloing. — **Appareil pour l'analyse bactériologique des eaux.** (*Revue d'hygiène et de police sanitaire,* t. X, page 473).

Le professeur Arloing, auquel la Science est redevable de si intéressantes découvertes, a imaginé un appareil pour le dosage des bactéries des eaux. Cet appareil se compose d'une boîte rectangulaire, munie d'un couvercle formé de deux lames de verre se fermant comme les deux battants d'une croisée, mais en laissant une fente de quelques millimètres, recouverte au moment de l'analyse par un *couvre-joint* percé d'un trou à travers lequel passe la pointe effilée d'une pipette, maintenue par un bras métallique dans la position verticale. Dans l'intérieur de la boîte, bien close, se meut un chariot, actionné de l'extérieur au moyen de deux vis, à la manière d'une platine rectangulaire de microscope. Sur ce chariot on place une plaque de verre quadrillée, recouverte d'une forte couche de gélatine nutritive stérilisée ; cette plaque est divisée en 60 petits carrés de 1 c. m. de côté. Puis on dépose méthodiquement, au centre de chacun de ces petits carrés, une goutte de l'eau à doser convenablement diluée. L'eau, bue rapidement par la gélatine, laisse les germes à la surface de la plaque, qui se développent ultérieurement. Plus tard, on compte les colonies qui ont pris naissance sur la plaque quadrillée, et on déduit de ce calcul la richesse de l'eau en bactéries.

Le procédé de M. Arloing est très simple, il abrège les manipulations, il permet à l'observateur de compter rapidement les colonies, d'éloigner le plus possible d'entre elles celles qui ont une grande tendance à envahir ou à fondre la gelée ; enfin, il signale

immédiatement aux yeux du micrographe les colonies venues de l'extérieur, qui, à moins d'une coïncidence exceptionnelle, se trouvent toujours en dehors de la place où les gouttes d'eau ont été déposées.

En somme, l'appareil de M. le professeur Arloing constitue un réel progrès dans l'emploi des plaques de gélatine appliquées à l'étude bactérioscopique des eaux, et il porte avec lui ce cachet de précision qu'on a l'habitude de rencontrer dans tous les instruments sortis des mains de ce savant physiologiste.

D^r M.

Cornil et Toupet. — **Le Choléra des Canards.** (*Recueil de Médecine vétérinaire*, VIIe série, t. 5, n° 13).

Dernièrement, MM. Geoffroy-Saint-Hilaire et Ménard observaient sur les canards du jardin d'acclimatation une maladie épidémique, qui, par ses symptômes, ses lésions, sa rapidité, sa terminaison presque toujours mortelle, sa grande contagiosité, offrait beaucoup de ressemblance avec le choléra des poules.

Mais, tandis qu'elle sévissait avec intensité sur les canards domestiques, elle respectait les autres volatiles, telles que poules, pigeons, qui, cependant, vivaient en communauté plus ou moins directe avec les canards.

MM. Cornil et Toupet, chargés de l'examen bactériologique, trouvèrent dans le sang des divers tissus et organes des canards morts spontanément une quantité considérable de micro-organismes, voisins par leurs caractères morphologiques des microbes du choléra des poules.

Ces microbes, sous forme de bâtonnets courts, arrondis à leurs extrémités, de 1 μ à 1,5 μ ou 2 μ de long sur 0,5 μ de large, bien que se rapprochant de ceux du choléra des poules par leurs dimensions, leurs caractères morphologiques, s'en différenciaient légèrement par l'aspect que présentaient leurs cultures. En effet, dans les tubes de gélatine, inoculés par piqûre, on voit que les colonies sont d'autant plus volumineuses qu'elles sont plus profondes ; ce qui semblerait indiquer que le microbe du choléra des canards est anaérobie et aérobie, tandis que celui du choléra des poules est exclusivement aérobie.

Mais si, comme le disent MM. Cornil et Toupet, le caractère des cultures ne permet pas toujours de les distinguer sûrement de celles du choléra des poules, il en est tout autrement de leur mode d'action sur l'économie animale. Le sang des malades, les liquides de cul-

tures, introduits dans l'économie, soit par injection sous-cutanée, soit par ingestion, reproduisent chez les canards domestiques une affection identique, caractérisée par la pullulation des mêmes microbes dans le sang, tandis qu'ils n'ont aucune action sur les poules et sur les pigeons. Les lapins, si sensibles au choléra des poules, ne sucombent qu'après inoculation de doses considérables de virus de culture.

Tout en reconnaissant le choléra des canards comme une maladie distincte du choléra des poules, MM. Cornil et Toupet pensent que cette maladie pourrait bien être une forme atténuée du choléra des poules. Telle n'est pas l'opinion de M. Nocard, qui considère cette affection comme propre au canard et bien distincte d'une maladie analogue, si mortelle pour les poules et les pigeons, et il base son interprétation sur les faits suivants :

1° Le choléra des poules frappe tous les oiseaux sans exception, tandis que la maladie étudiée par M. Cornil n'a exclusivement exercé ses ravages que sur les canards ;

2° Les liquides virulents du choléra des canards sont inoffensifs pour les poules et les pigeons ;

3° Les cultures sur gélatine indiquent que le microbe du choléra des canards est à la fois aérobie et anaérobie, tandis que le microbe du choléra des poules est le type des organismes aérobies;

4° Les pigeons et les poules, inoculés avec le virus du choléra des canards, n'acquièrent pas l'immunité contre le choléra des poules.

L. M.

Dr G. Nuttall. — **Expériences sur l'action nocive de l'organisme vivant de l'animal à l'égard des bactéries.** (*Zeitschrift fur Hygiene*, t. IV, 2, p. 353).

Un des points les plus contestés par les adversaires de M. Metschnikoff, dans la théorie phagocytaire de ce savant, est la question de savoir si les microbes que l'on trouve dans l'intérieur des phagocytes ont été englobés à l'état vivant ou bien si ce n'est peut-être qu'après avoir perdu toute vitalité par d'autres causes qu'ils deviennent leur proie. On conçoit facilement que ce n'est que dans le premier cas que l'on pourrait attribuer aux phagocytes un rôle prépondérant dans la défense de l'organisme contre les invasions bactériennes. Travaillant sous la direction de M. le professeur Flügge, M. le Dr Nuttall a cherché à élucider ce problème en reprenant les expériences bien connues qui ont servi de base à la théorie de M. Metschnikoff. On se rappelle que ce dernier avait

inséré sous la peau de grenouilles de petits morceaux d'organes charbonneux et qu'il avait remarqué dès le lendemain, autour des fragments inoculés, une agglomération de leucocytes remplis de bactéridies, en partie déjà dégénérées, tandis que les bactéridies libres ne présentaient jamais de formes dégénérées. Il avait également pu poursuivre l'action bactéricide des leucocytes dans l'organisme du lapin inoculé avec des cultures charbonneuses atténuées. M. Nuttall a également étudié, ainsi que Metschnikoff l'avait déjà fait, les rapports entre leucocytes et bacilles sur la platine chauffante du microscope.

I. — Expériences sur les grenouilles.

De petites parcelles, grosses comme la moitié d'une lentille, du poumon de souris mortes du charbon furent insérées sous la peau du dos des grenouilles, et celles-ci maintenues à environ 16 degrés pendant le jour; la nuit, la température ne descendait pas au-dessous de 10°. Au bout d'un temps variant de 15 heures à 17 jours, les fragments inoculés qui, au bout de quelques jours déjà, avaient perdu leur couleur naturelle et étaient entourés et pénétrés par un exsudat gélatineux gris-jaune, étaient examinés au microscope avec et sans coloration; ils servaient également à faire des cultures sur plaques et des inoculations. Dans les préparations microscopiques de cet exsudat M. Nuttall trouva constamment de nombreux leucocytes polynucléaires ou à noyau lobulé, et, en outre, des cellules avec un gros noyau pâle. Dans les préparations fraîches on constate leurs mouvements amiboïdes. Au bout de 16 heures, il n'y avait point encore de leucocytes renfermant de bacilles, bien que M. Metschnikoff ait observé ce phénomène, dit-il, déjà au bout de 12 à 15 heures. Au bout de 22 heures, par contre, un assez grand nombre de bacilles étaient dans les leucocytes. En prenant la moyenne de nombreuses numérations faites à différents endroits de la préparation, M. Nuttall arriva, dans un cas, à évaluer le nombre des bacilles englobés dans les leucocytes à 27 °/₀ de leur chiffre total ; dans un autre cas, toutefois, il n'en compta que 1 °/₀. A partir de la fin du premier jour leur nombre augmente considérablement, et dans les parcelles restées sous la peau des grenouilles de 90 heures à 10 jours on trouve de 50 à 70 °/₀ de bacilles dans les leucocytes. En même temps, le nombre absolu des bacilles diminue, et vers le 13e et 14e jour, il en reste si peu qu'il devient difficile d'établir la proportion entre ceux qui sont libres et ceux qui sont englobés. Les bacilles englobés ne présentent, en général, pas de modifications plus sensibles que les

exemplaires libres. Pendant les 2 premiers jours les bacilles paraissent normaux; après ce temps, on constate de plus en plus des formes dégénérées (boursouflures, désagrégation des bacilles), reconnaissables aussi à leur mauvaise coloration qui, avec le bleu de méthylène, au lieu d'être d'un beau bleu, prend une teinte violacée d'un aspect sale. Au bout de 13 jours, presque tous les bacilles que l'on voit encore sont dégénérés. Mais cette dégénérescence frappe autant les bacilles libres que les bacilles englobés, et il n'y a aucune différence appréciable dans les altérations qu'ils présentent. Contrairement à l'assertion de M. Metschnikoff, confirmée par M. Lubarsch, que les bactéries contenues dans le fragment inoculé perdent leur virulence entre le 3e et 5e jour, M. Nuttall a constaté leur caractère infectieux encore après 16 et 17 jours. Dans une première série d'expériences, M. Nuttall inoculait des souris avec des parcelles des fragments ayant séjourné sous la peau des grenouilles; les souris mouraient, mais avec des retards considérables; il changea alors le mode d'inoculation, et se servit d'une émulsion des mêmes fragments; les souris moururent après un temps d'incubation normal, c'est-à-dire entre la 20e et la 23e heure; l'atténuation apparente de la première série d'expériences provient, selon lui, de ce que les bacilles vivants se trouvent surtout dans l'intérieur des fragments et qu'il leur faut un certain temps pour le traverser et provoquer l'infection. Les colonies obtenues dans les cultures se montrèrent toutes virulentes. M. Nuttall serait donc tenté d'expliquer la différence des résultats obtenus par Metschnikoff, sur ce point spécial, par des différences dans la méthode d'inoculation.

En répétant les mêmes expériences sur des grenouilles d'été maintenues entre 17 et 23°, les résultats furent les mêmes. Quand on met les grenouilles à l'étuve, à la température de 23°, on constate un développement abondant des bacilles contenus dans le fragment inoculé. Souvent ils croissent en forme de longs filaments qui, quand ils sont englobés dans un leucocyte, sont tordus ou enroulés sur eux-mêmes. L'activité des leucocytes semble être favorisée par cette température. Au bout de 48 heures déjà, 27 °/o des bacilles sont dans les cellules; au bout de 68 heures, environ 50 °/o. Après 95 heures, les bacilles diminuent et présentent toujours plus de formes dégénérées. Au bout de 9 jours, tous ceux que l'on voit, tant libres que dans les cellules, sont en voie de dégénérescence. Jusqu'au 7me jour, les bacilles avaient conservé leur virulence entière. Le nombre des bacilles libres est toutefois toujours considérable, près de la moitié, et M. Nuttall ne pense pas que l'on puisse admettre qu'ils soient devenus libres par suite des

manipulations nécessitées pour les préparations. Celles-ci ont toujours été faites d'après les indications de M. Metschnikoff, et, d'ailleurs, on rencontre parmi les bacilles libres de très longs filaments qui n'auraient pas pu être renfermés dans une cellule. En soumettant les grenouilles à des températures plus élevées, on les fait mourir rapidement, et on trouve alors des bacilles dans les organes; ils se trouvent, dans ce cas, rarement dans les leucocytes. M. Nuttall confirme ainsi les observations de M. Metschnikoff, en ce qui a trait à l'englobement et la dégénérescence des bacilles dans les leucocytes; par contre, contrairement à ce savant, il a vu au moins autant de bacilles dégénérer en dehors des cellules, ce qui diminuerait beaucoup l'importance attribuée aux phagocytes.

II. — Expériences sur les animaux à sang chaud.

En opérant avec des lapins, M. Nuttall employa la même méthode que M. Metschnikoff. De petits tubes de verre, remplis d'une émulsion de bactéridies charbonneuses, sont introduits dans une poche cutanée pratiquée dans l'oreille, et brisés après la guérison de la plaie. Avec des bactéridies atténuées, ne tuant plus que les souris, l'examen de l'oreille fait au bout de 16 heures montrait de nombreux leucocytes; les bacilles étaient libres pour la plupart, mais commençaient déjà à se mal colorer. Au bout de 22 heures, 50 % des bacilles étaient dans les leucocytes, et plusieurs fortement dégénérés. Après 41 heures, le nombre des bacilles avait diminué; la moitié environ était libre, et présentait, aussi bien que ceux qui étaient englobés, des formes dégénérées. Au bout de 64 heures, il ne restait plus que très peu de bacilles, parmi lesquels il y en avait toujours encore de libres. En employant de vieilles cultures ne contenant à peu près que des spores et des formes dégénérées, on constate que l'englobement des bacilles par les leucocytes est plus abondant et plus rapide. Au bout de 20 heures, dans ce cas, plus de la moitié des bacilles, tous fortement dégénérés, se trouvent dans l'intérieur des cellules.

Lorsque l'on se sert de cultures virulentes, l'exsudat est beaucoup moins considérable, on voit peu de leucocytes, et les bacilles sont rarement englobés. Ils pullulent, et l'animal meurt en 2 jours environ. Quand la culture est vieille et riche en formes dégénérées, l'exsudat est plus abondant, et au bout de 17 heures le tiers environ des bacilles est englobé. Les animaux meurent néanmoins du charbon. En se servant de lapins auxquels on a préalablement conféré l'immunité par la méthode de MM. Chamberland et Roux,

et auxquels on a injecté ensuite 0,3 ccm d'une culture charbonneuse virulente sous la peau de l'oreille, on trouve, 24 heures plus tard, l'endroit de la piqûre rouge et gonflé; la pression fait sortir une goutte d'un pus épais contenant de nombreux bacilles dont les uns sont normaux, les autres plus ou moins dégénérés. La plupart sont libres. Au bout de 48 heures, tous les bacilles sont en voie de dégénérescence, mais le nombre de ceux englobés par les leucocytes augmente à peine.

III. — Observations sur la platine chauffante.

M. Nuttall a aussi étudié directement, sous le microscope, l'action des phagocytes sur les bacilles. Pour cela une goutte de sang, de lymphe, etc., recueillie avec les précautions nécessaires, était placée sur un couvre-objet et inoculée à son bord avec un fil de platine plongé dans une dilution de bactéridies charbonneuses. La quantité inoculée était de près de 30 à 40 bacilles. Le couvre-objet était alors fixé avec de la paraffine sur un porte-objet creux, ce qui permet de continuer les observations pendant longtemps. Dans les cas où une température plus élevée était nécessaire, M. Nuttall se servait d'une petite étuve donnant place à tout le microscope et ne laissant passer que la partie supérieure du tube et la vis micrométrique.

Dans la lymphe et dans le sang des grenouilles, M. Nuttall constata ceci : peu après le début de l'observation, les leucocytes, dont les mouvements rapides sont faciles à observer, commencent à englober les bacilles. De longs filaments sont souvent entourés de plusieurs leucocytes, ce qui donne lieu à des figures en chapelets. Au bout de quelques heures on voit apparaître des formes dégénérées, mais, contrairement au dire de M. Metschnikoff, tant parmi les bacilles libres que parmi ceux qui sont englobés. Deux bacilles libres, observés d'une façon continue, montrèrent, au bout de 4 heures, des signes manifestes de dégénérescence. Le protoplasme devient granuleux, les contours perdent de leur netteté, et les bacilles se désagrègent; quelquefois aussi les granulations disparaissent de nouveau, les contours redeviennent nets, mais le bacille pâlit, et finit par ne plus être visible; des formes en massues et des gonflements sont également fréquents. Les différentes phases de la dégénération se voient très bien aussi dans les préparations colorées; selon M. Nuttall le bleu de méthylène très dilué fixe mieux les diverses gradations que la vésuvine employée par M. Metschnikoff. Au bout de 6 heures, la moitié au moins des *bacilles libres* ont

dégénéré, et, dans toutes les préparations, leur nombre égale celui des bacilles englobés par les leucocytes.

Dans le sang d'animaux à sang chaud, — M. Nuttall a examiné le sang de l'homme, du chien, de la poule, du pigeon, du mouton vacciné et non vacciné, du lapin et de la souris — on voit également les leucocytes s'emparer des bacilles; la majeure partie de ces derniers toutefois reste libre et dégénère sans être englobée. La dégénération des bacilles atteint son maximum dans un temps variable, selon l'espèce de sang employé. Le sang le plus actif parut être celui de l'homme et du mouton vacciné (3/4—1 heure); c'est dans le sang du lapin que les bacilles dégénèrent le plus lentement (5 heures), leur destruction est alors d'autant plus complète. Les leucocytes du lapin englobent aussi un certain nombre de bacilles, contrairement à l'opinion de M. Metschnikoff; ils sont cependant moins actifs que ceux d'autres animaux. Dans le sang de la souris on ne remarque presque pas de dégénération et peu de leucocytes bactériphages. Après que la dégénérescence a atteint son summum d'intensité, les bacilles sont ou bien tous morts, et l'on ne voit plus rien croître, ou bien quelques-uns sont restés vivants et on les voit alors pousser en longs filaments et remplir toute la goutte.

En se servant de liquides moins riches en leucocytes (humeur aqueuse et sérosité péricardique) la dégénérescence des bacilles se produit également. Ces expériences semblent indiquer que différents liquides de l'organisme peuvent exercer une action nocive sur les bactéries, et M. Nuttall en conclut que, bien que les leucocytes englobent une partie des bactéries qui y dégénèrent plus tard, ce n'est pas aux phagocytes que revient le mérite de la destruction des microbes. Il lui paraîtrait plus vraisemblable que les bacilles ont, au moment de leur englobement, déjà subi une certaine altération par le fait de l'action des liquides de l'organisme, et que c'est par conséquent ceux-ci qui joueraient le rôle principal dans la défense de l'organisme contre les bactéries. Cette hypothèse lui semble trouver un appui dans le fait que le nombre des bacilles englobés est d'autant plus considérable que les phénomènes de dégénération ont été plus rapides parmi les bacilles libres. Quoi qu'il en soit de cette dernière hypothèse, une chose semble ressortir des expériences très nombreuses et très consciencieuses de M. Nuttall, c'est que les phagocytes sont doués, ainsi que l'affirme M. Metschnikoff, du pouvoir d'englober des bacilles vivants, ou du moins dont les formes ne manifestent point encore de signes extérieurs de dégénérescence; or, c'est là précisément, comme nous l'avons dit plus haut, un des points que les adversaires de

M. Metschnikoff se plaisent le plus à contester; à les entendre, les phagocytes seraient incapables de s'attaquer à autre chose qu'à des bactéries mortes et réduites, par conséquent, à l'état de particules inertes. Que l'organisme ait par contre, en outre des phagocytes, encore recours à d'autres moyens de défense, et que, en particulier, le sang et la lymphe puissent contenir des substances nuisibles pour les bactéries, ceci est parfaitement possible, et ce n'est certes pas un des moindres mérites du mémoire de M. le Dr Nuttall que d'avoir attiré l'attention sur ce point digne de provoquer de nouvelles recherches. M. Nuttall lui-même s'est efforcé de poursuivre ce problème, en cherchant par des expériences de culture à déterminer si le sang modifie seulement les formes des bacilles ou bien s'il les tue tout à fait. Dans ce but, il ensemença des quantités connues de bacilles dans des ballons contenant du sang frais défibriné d'animaux divers, et procéda, au bout d'intervalles variables, à des numérations exactes. Le résultat fut que le sang tue, en effet, un nombre considérable des bactéries ensemencées. Ainsi, cultivés dans le sang d'un mouton vacciné, les bacilles, qui étaient par exemple au début au nombre de 4.578, tombèrent, en 3 heures 1/2, au chiffre de 185. Dans le sang d'un mouton non vacciné la diminution ne fut, en 3 heures, que de 7.938 à 6.664. Dans le sang des souris, par contre, non-seulement il n'y eut pas diminution, mais même augmentation. Le sang du lapin a de même une action bactéricide marquée. Dans une expérience, 90.000 bacilles furent tués en 4 heures; dans une autre, il en resta de 45 à 153 en vie sur 7.000 qui avaient été ensemencés. Après que la destruction des bacilles a atteint son maximum, les bacilles restés en vie commencent à pulluler, ce qui indique qu'au bout d'un certain temps le sang perd ses qualités nocives à l'égard des bactéries. Une expérience le confirme du reste; du sang ensemencé au bout de 8 heures seulement ne tuait plus que très peu de bacilles. De même en le chauffant à 50°-55° on lui enlève ses propriétés bactéricides. Le *Bacillus subtilis* et le *Bacillus megaterium* se montrèrent également sensibles à l'action nocive du sang; elle ne se fit, par contre, pas sentir à l'égard du *Staphyloccocus aureus*. M. Nuttall pense, du reste, que des méthodes expérimentales plus parfaites permettront de mettre mieux en lumière cette action nocive des liquides organiques.

E. F.

BIBLIOGRAPHIE

Dr C. Flugge. — **Les microorganismes étudiés au point de vue de l'étiologie des maladies infectieuses,** traduit de l'allemand, d'après la 2me édition, par M. le Dr F. Henrijean, un vol. in-8°, 614 pages, 144 fig. A. Manceaux, libraire-éditeur, Bruxelles.

L'ouvrage du professeur Flügge est divisé en deux parties : dans la première, on trouve groupés les chapitres consacrés à la morphologie, à la classification et à la description des végétaux parasites microscopiques; dans la seconde, les chapitres traitant de la biologie générale, des fonctions chimiques et pathogènes de ces mêmes microorganismes. Un pareil sujet ne pouvait être abordé par un savant plus compétent, aussi le livre du Dr Flügge sera-t-il favorablement accueilli en France, le berceau des théories vitalistes de la fermentation et des théories parasitaires des maladies infectieuses auxquelles se rattachent intimement les noms célèbres de Cagniard, de Pasteur, de Davaine, de Coze et Feltz, de Toussaint et de bien d'autres auteurs. Ces théories fécondes, à côté des vues étroites et stériles dans lesquelles Liébig, Bilroth, Hiller, Fleck et leurs partisans prétendaient renfermer les phénomènes de la fermentation due d'après eux à une action purement chimique, M. Flügge les proclame magistralement et les vulgarise avec une autorité incontestable, dans le livre que nous analysons et qui résume nos connaissances actuelles sur ces importantes questions. Nous attirerons spécialement l'attention du lecteur sur le chapitre qui traite des schizomycètes et qui occupe à lui seul la moitié du volume, sur les chapitres suivants plus généraux, mais non moins instructifs, où sont décrites les manifestations vitales des organismes inférieurs et où il est parlé du mode de propagation des épidémies. Cette dernière partie aurait beaucoup gagné, à notre avis, à être traitée avec plus de simplicité et de méthode, avec une plus grande sobriété de vues personnelles et surtout avec moins de lacunes. Mais ces imperfections ne sauraient amoindrir

considérablement la valeur de l'excellent ouvrage que le Dr Henrijean a spécialement traduit pour les lecteurs français étrangers à la langue allemande. Le rôle de ce jeune savant n'a pas simplement été celui de traducteur fidèle, souvent il a ajouté au livre du Dr Flügge des notes intéressantes qui le complètent très heureusement.

En somme, la traduction de l'ouvrage *Die microorganismen*, déjà très apprécié des savants, doit trouver sa place dans les laboratoires français de Bactériologie, dans les cliniques hospitalières, dans la bibliothèque des médecins, des hygiénistes, des naturalistes et des élèves de nos Facultés. Plusieurs raisons militent en faveur de ce choix, car en dehors des grands services que le livre de M. Flügge est appelé à rendre, il nous éclaire sur le niveau actuel des études bactériologiques en Allemagne; et puis, nous devons l'avouer, nous ne possédons pas en France un traité qui puisse lui être comparé sous le rapport de la forme et des détails qu'il accorde à certaines espèces microscopiques particulièrement étudiées par quelques auteurs étrangers.

Dr M.

FABRE-DOMERGUE. — **Premiers principes du microscope et de la technique microscopique,** un vol. de 280 pag. avec 32 fig., 1889. Asselin et Houzeau, lib.-éditeurs, Paris.

L'ouvrage de M. Fabre-Domergue n'appartient pas à la catégorie des livres qui demandent à être recommandés, ses lecteurs penseront avec nous que le bien qu'on en peut dire ne saurait être mis en parallèle avec les services qu'il peut rendre. A l'époque actuelle, on a le droit de regretter la publication d'un nombre toujours croissant de manuels de microscopie, pour la plupart mal faits, péniblement élaborés, inintelligibles, où l'on voit souvent des hérésies scientifiques coudoyer des descriptions inexactes, et où enfin l'élève a une peine extrême à trouver une formule, un procédé applicable aux recherches qu'il projette.

Le livre de M. Fabre-Domergue n'a aucun lien de parenté avec de semblables manuels; il se présente d'abord sous un format commode et avec des dimensions rassurantes; son style clair, précis et élégant, en rend immédiatement la lecture captivante; on sent d'ailleurs que l'auteur, maître de son sujet, expose des questions qui lui sont familières; que, pourvu d'une érudition vaste, il

s'efforce sans cesse à rester élémentaire, à présenter à l'élève les connaissances qu'il doit immédiatement acquérir et à le détourner de celles qui pourront faire plus tard l'objet de ses études approfondies. A la manière des praticiens habiles, M. Fabre-Domergue se montre sans cesse soucieux d'éviter aux commençants les détails fatigants et inutiles qui surchargent l'esprit et enfantent la confusion. A quoi bon, en effet, décrire 10 ou 20 procédés de fixation, de coloration, de durcissement, d'inclusion, quand la connaissance de quelques-uns d'entre eux satisfait aux exigences de la pratique habituelle. En présentant aux lecteurs un petit nombre de faits d'une assimilation facile et presque immédiate, M. Fabre-Domergue montre qu'il possède à un haut degré le talent rare d'enseigner et d'intéresser tout à la fois.

Son livre est divisé de la manière suivante : une première partie est consacrée au microscope, à ses accessoires, et à la question importante du choix de cet instrument ; dans une seconde partie sont réunis les principes généraux de la technique microscopique, groupés en chapitres se succédant suivant un ordre méthodique ; les troisième et quatrième parties du livre de M. Fabre-Domergue constituent à notre avis une innovation très heureuse, elles contiennent d'abord une série d'exercices élémentaires très détaillés, servant à l'élève d'introduction à l'étude pratique de la technique, puis un exposé succinct des travaux pratiques d'histologie normale, de cytologie, d'embryologie, de botanique et de bactériologie.

Le précis de M. Fabre-Domergue s'adresse surtout aux étudiants en médecine et en pharmacie, aux élèves des sciences naturelles et aux amateurs des choses de la micrographie. La faveur qu'il saura acquérir auprès de la jeunesse studieuse démontrera qu'il vient combler une lacune réelle dans l'enseignement des sciences micrographiques.

D^r M.

Bütschli. — **Bronn's classen** (*Protozoa*, fasc. 47-49, 1888, p. 1377-1488).

L'auteur termine l'étude de l'ectoplasma des infusoires ciliés par celle de l'anus, qu'il considère comme une production ectoplasmique. Il commence celle de l'endoplasme par des considérations sur la structure particulière du protoplasma des ciliés, puis passe à la formation des bols alimentaires et à la défécation. Il étudie la vésicule contractile, les trichocystes, et termine par l'étude des

divers corps contenus dans le plasma (Glycogène, paramylon, chlorophylle, etc.).

Ces livraisons sont accompagnées d'une préface de XVIII pages, destinée à être mise en tête du premier volume.

F. D.

Dr J. FERRAN. — **Revendication de la priorité de la découverte des vaccins du choléra asiatique**, broch. de 94 p. Barcelone, 1888.

Nous recevons de notre savant confrère Jaime Ferran un plaidoyer intéressant en faveur de la priorité de sa découverte des vaccins du choléra indien. Cette brochure est adressée à l'Académie des Sciences de Paris, qui a reçu, à la date du 10 Août 1888, une note du Dr Gamaleia sur la vaccination préventive du choléra asiatique, note renvoyée à la Commission du Grand Prix Bréant (100,000 fr.). Nous n'avons pas d'avis à émettre sur cette question soumise au jugement éclairé de notre Académie des Sciences, mais l'on doit ardemment souhaiter que ce corps savant se prononce sur les quelques questions suivantes : 1° le *Komma bacillus* est-il l'agent du choléra asiatique? 2° Ce microbe sécrète-t-il un virus chimique? 3° Ce virus peut-il préserver l'homme, et pendant combien de temps, de cette redoutable affection? La parole doit donc d'abord rester aux faits, puis, s'il y a lieu, le moment sera venu de trancher la question de priorité qui divise plusieurs auteurs; le document que nous recevons aujourd'hui sera alors précieux à consulter, et notre sympathique confrère M. Ferran peut être assuré que l'Académie des Sciences de Paris apportera toute son impartialité dans l'étude de cette dernière question.

Dr M.

L'Éditeur-Gérant :
GEORGES CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

SUR L'APPLICATION
DE QUELQUES MÉTHODES PHOTOMICROGRAPHIQUES

PAR

Le Dr R. L. MADDOX Hon. Fell. R. M. S., etc.

Parmi les méthodes usitées pour la reproduction des images microscopiques, il en existe une qu'on néglige trop souvent, et qui me paraît cependant capable de rendre de bons services aux photomicrographes.

Dans cette note, je considérerai d'abord les méthodes usuellement employées, avec les applications auxquelles elles se prêtent dans les divers cas particuliers, et, plus bas, la méthode à laquelle je viens de faire allusion.

Les quelques pages que ce sujet occupera dans ce journal me paraissent justifiées par la fréquence de l'emploi de la photomicrographie comme adjuvant précieux aux dessinateurs et aux observateurs qui désirent conserver une image fidèle et détaillée de l'objet aperçu sous le microscope. Autrefois, l'usage des glaces collodionées rendait difficile la pratique de la photomicrographie sans le secours d'une installation spéciale; aujourd'hui, on ne peut invoquer ces difficultés, et les commodités qu'offrent les plaques sèches au gélatino-bromure rendent ces recherches abordables par tous avec un luxe de facilités (1). Le

---

(1) *Note de la rédaction.* — Il nous paraît juste de rappeler que le Dr Maddox est un de nos plus anciens photomicrographes, que c'est à lui que l'on doit la découverte des glaces au gélatino-bromure, découverte consacrée, il y a trois ans, par une médaille d'or accordée à notre savant collaborateur par le Jury de l'Exposition internationale des Inventions.

temps est également passé où il était nécessaire de saisir au passage les beaux jours et la convenance de l'héliostat disposé pour la réflexion des rayons solaires. Une petite lampe à huile de pétrole suffit actuellement dans la majorité des cas pour l'éclairage des objets, si on sait convenablement la disposer, et si l'on prend toutes les précautions indispensables pour éviter les vibrations des diverses parties de l'installation.

La résolution prise de se livrer à la photomicrographie, il n'est pas toujours aisé de faire un choix judicieux des voies et moyens à adopter, chaque mode d'opérer présentant des avantages qu'on trouve rarement communs à tous les procédés. Parmi les méthodes usuelles qui permettent d'obtenir un bon cliché de l'objet en observation, on peut, si on ne veut pas dépasser une amplification de 200 à 300 diamètres, et si l'objet est de petite dimension et sans grands détails, on peut, dis-je, choisir entre sa reproduction par amplification directe, c'est-à-dire en un seul temps, ou faire un cliché très net à un faible grossissement, destiné plus tard à être amplifié avec les plaques collodionées; c'est ainsi qu'a excellemment opéré M. le Dr Roux et d'autres auteurs pour la reproduction des bactéries.

Si on choisit ce dernier mode d'opérer, une petite chambre noire suffira : on l'ajustera à l'extrémité oculaire du tube du microscope, suivant la manière de M. Moitessier ou de M. Vérick. Le châssis sera chargé d'une plaque au gélatino-bromure n'excédant pas en surface le quart d'un quart de plaque ordinaire. Les avantages de cette manière de faire résident dans la facilité de son application et dans la faible durée du temps de pose, et, par conséquent, dans les risques moindres des perturbations produites par les ébranlements vibratoires et les changements de foyer causés par la chaleur. Mais cette façon d'opérer présente quelques inconvénients que je dois signaler; au moment du développement, l'image se distingue difficilement sur la petite plaque, et l'on est forcé de juger uniquement de sa révélation par le contraste du champ.

Le cliché obtenu étant jugé satisfaisant, on peut confier aux opérateurs habitués au procédé du collodion humide

le soin de sa reproduction secondaire, ou l'entreprendre soi-même.

Pour faire la seconde amplification au moyen des plaques sèches commerciales, il est très important que la couche de gélatine sensible, sur laquelle doit être imprimé le cliché au positif, soit dépourvue de toute granulation apparente. Cette seconde amplification peut être scindée, c'est-à-dire exécutée d'abord sur le positif, puis sur le négatif, ou bien effectuée en une seule fois. Mieux vaut cependant opérer par agrandissements successifs.

Généralement, pour les grossissements linéaires de 200 à 300 diamètres, on préfère obtenir un cliché direct sur quart de plaque, ce qui supprime l'amplification secondaire, et donne des résultats très satisfaisants, quand les détails de l'objet à reproduire à ce grossissement sont suffisamment visibles. D'ailleurs, il est plus tard aisé, avec un bon objectif, d'agrandir en totalité ou en partie l'image de ce dernier cliché.

Pour obtenir le cliché direct, on peut employer un objectif d'un pouvoir moyen ou se servir d'un objectif à pouvoir plus faible, et atteindre le grossissement souhaité par l'allongement de la chambre noire. Pour se prononcer sur le meilleur de ces deux moyens, il est indispensable d'examiner attentivement l'image fournie par ces deux méthodes, car il importe de se rappeler qu'il existe des objectifs qui, bien que très bons pour les observations visuelles à une longueur donnée du tube du microscope, ne permettent pas l'allongement de la chambre noire, sans faire perdre rapidement à l'image de sa netteté.

Si on veut photographier des préparations sur grandes plaques avec des amplifications de 500 à 1.000 diamètres, on a le choix entre deux ou trois méthodes : on peut faire usage, par exemple, d'un objectif à haut pouvoir, à sec ou à immersion, dont on reçoit l'image directement sur la couche sensible, ou d'un objectif à pouvoir moyen aidé dans son action par un oculaire. Le grossissement peut encore être obtenu en deux fois, comme il vient d'être dit plus haut ; enfin, l'usage de l'*amplificateur* est encore ici d'un précieux secours, nous désignerons par ce mot une lentille concave achromatisée en sens inverse des lentilles

achromatiques ordinaires. Cette méthode si souvent négligée est pourtant capable de rendre d'excellents services et supprime l'allongement exagéré de la chambre noire. Il est important que cet *amplificateur* soit construit tout exprès par l'opticien avec tous les soins nécessaires. L'observateur ne doit pas négliger non plus de déterminer les positions qu'il doit occuper avec tels ou tels objectifs, pour obtenir le grossissement désiré avec une netteté parfaite.

Revenons un instant sur l'emploi de l'oculaire n° 1 pris pour exemple. On pourrait être tenté de le retenir simplement en place sur le tube du microscope, avec un objectif déterminé, et penser que cet arrangement peut donner des résultats satisfaisants. Je dois, à cet égard, détromper l'opérateur : dans de semblables conditions, une cause d'erreur importante peut se présenter, qui réside dans le défaut de centrage des lentilles de l'oculaire et de l'objectif. La moindre divergence en pareil cas s'accuse par un défaut de netteté de l'image, bien que cela ne puisse être soupçonné par l'usage ordinaire de l'oculaire. Pour se convaincre d'ailleurs du fait que j'avance, il suffit de mesurer sur l'écran deux points de l'image bien exactement choisis à une égale distance du centre ; puis de projeter cette image avec l'objectif seul, ensuite avec l'oculaire adjoint à l'objectif, de façon à obtenir dans les deux cas le même grossissement. On remarque alors quelquefois que l'un des points se trouve avec cette dernière combinaison optique plus près du champ que l'autre, et que l'image a manifestement perdu de sa netteté. Ces mesures ayant été pratiquées avec précision, si un pareil désaccord est constaté, l'oculaire employé devra être impitoyablement rejeté comme impropre à la photomicrographie.

Le défaut que je signale n'est pas le seul qui puisse se présenter. Il arrive parfois que les corrections des lentilles de l'oculaire ne sont pas en parfait accord avec celles de l'objectif choisi, fait qui se traduit par une correction trop positive ou trop négative qui nuit à la pureté de l'image, soit par aberration de sphéricité, soit par un défaut de coïncidence entre les foyers lumineux et actiniques. On

peut combattre à un certain degré ces divers défauts, en donnant à l'oculaire une mobilité qui permet d'en faire varier la position.

Evitera-t-on tous ces inconvénients en substituant l'*amplificateur* à l'oculaire ? Non, car les mêmes défauts peuvent se présenter avec cette lentille ; ils seront cependant moins accusés à cause de sa situation plus voisine de l'objectif. Supposons que tout soit pour le mieux, c'est-à-dire que les corrections soient irréprochables, n'existe-t-il pas d'autres points qui doivent attirer notre attention ? Assurément, il en existe ; tout d'abord, la position que doit occuper l'*amplificateur* entre l'écran et l'objectif doit sérieusement nous préoccuper. Cette position ne nous paraît pouvoir être convenablement trouvée que par tâtonnement, et, pour effectuer commodément les mouvements requis par cette opération, comme pour éviter de voir le champ embrassé être coupé par l'extrémité du tube, quand l'*amplificateur* devra être placé au voisinage de l'objectif, il sera indispensable de faire usage d'un tube d'un diamètre beaucoup plus large que ceux qui sont habituellement employés. L'*amplificateur* sera adapté à un tube interne muni d'une crémaillère qui s'engagera en glissant dans un tube de plus gros diamètre sur lequel sera fixé un pignon moteur. Depuis plusieurs années, j'ai adopté dans ma pratique ces tubes très larges que je suis heureux de voir également recommandés par le Dr Viallanes. Il est de même évidemment indispensable que l'intérieur de tous les tubes soit parfaitement noirci, car la moindre lumière réfléchie sur leur paroi peut voiler considérablement l'image. Ces conditions remplies, le photomicrographe obtiendra, avec l'usage d'une simple lampe à pétrole, et en soustrayant ses appareils à toute perturbation due aux vibrations, des épreuves comparables à celles que l'on obtient avec un objectif fort, et en tout cas bien supérieures aux images que peut fournir un oculaire ordinaire. Ce fait, constaté par feu le Dr J.-J. Woodward, de Washington des Etats-Unis, l'a été de même par moi. J'ajouterai que l'emploi d'un tube large facilite les manipulations et n'est en rien gênant pour les observations directes, qui restent tout aussi aisées qu'au-

paravant, si on a à sa disposition une pièce de raccordement convenablement construite pour maintenir les oculaires.

Il n'est pas ici question des objectifs à grand angle d'ouverture *NA (numérical aperture)* du professeur Abbe. L'objet à photographier décidera si l'on doit conserver avec netteté les détails d'un plan de petite dimension, ou si l'on doit sacrifier la netteté absolue d'une surface restreinte pour obtenir une vue d'ensemble complète.

On a souvent parlé, dans ce dernier cas, des avantages qu'on peut retirer de l'emploi des objectifs d'une grande pénétration, mais cette grande pénétration n'est qu'une expression applicable aux objectifs présentant une trop forte aberration de sphéricité pour pouvoir donner une image très nette d'un même plan, ou les contours d'un petit objet, ce que l'on obtient aisément avec un objectif mieux corrigé et à grand angle d'ouverture *NA*. Pourtant, ces objectifs dits à forte pénétration ont une certaine valeur pour les travaux journaliers des biologistes désireux de saisir à la fois les relations et les rapports qui peuvent exister entre plusieurs plans du même objet, sans être contraints à faire sans cesse varier le foyer. De tout côté, d'ailleurs, on doit être prêt à sacrifier quelques qualités, tout en choisissant les conditions qui facilitent le mieux le but qu'on veut atteindre.

En tous cas, on n'hésitera pas, toutes les fois que cela sera possible, à rejeter l'emploi de la lumière réfléchie par le miroir, et à recueillir sur un condensateur achromatique placé sous la platine du microscope la lumière directe ou concentrée au moyen d'une lentille spéciale, correctement placée sur le trajet des rayons lumineux. On apportera les plus grandes précautions à centrer ce condensateur avec l'objectif et l'image de la flamme de la lampe.

Quand on opère avec des préparations colorées, les meilleurs résultats sont donnés par les plaques au gélatino-bromure, dites orthochromatiques, et l'emploi d'un verre bien poli de couleur jaune. Quoique ces plaques soient d'une extrême sensibilité à la lumière, le temps de pose est toujours considérablement augmenté par l'emploi du

verre coloré. A l'époque où je me servais de collodion humide, j'avais souvent l'habitude de placer une couche de vernis plus ou moins foncé derrière la lame du porte-objet, en choisissant une nuance en rapport avec la couleur de l'objet à photographier. A cet égard, M. Dufresne a proposé l'usage de verres d'une couleur complémentaire à la teinte offerte par la préparation. Cette méthode est bonne quand la couleur de la préparation est uniforme; mais, s'il existe plusieurs teintes contrastant entre elles, il est préférable d'employer les plaques isochromatiques et la lame de verre de couleur jaune. Malgré les efforts multipliés pour reproduire les couleurs avec une valeur relative exacte, les rouges viennent mal.

Il me reste à dire quelques mots des objectifs apochromatiques de Zeiss et de l'oculaire à projection. Les avantages obtenus avec ces combinaisons optiques sont certainement très appréciables; leurs qualités s'accusent par une concordance fort nette entre les foyers actiniques et lumineux; elles permettent de conserver une distance relativement grande entre la frontale et le verre mince, même pour les objectifs forts; elles se recommandent enfin par leur grand angle d'ouverture NA, la rectitude du plan et l'éclat superbe qu'elles donnent aux images. L'oculaire à projection, construit de façon à correspondre avec les corrections données aux objectifs, ne présente pas les inconvénients des oculaires vulgaires. Malheureusement, le prix élevé de ces objectifs formés de dix lentilles, justifié d'ailleurs par le temps et l'attention nécessaires à leur construction délicate, dans laquelle entrent les nouveaux verres d'optique de la fabrique d'Iéna, s'oppose à la généralisation de leur usage. Par conséquent, les remarques faites plus haut s'appliquent aux objectifs ordinaires employés, soit à sec, soit avec immersion homogène.

Pour ce qui regarde l'emploi en photomicrographie des objectifs à immersion homogène construits pour une longueur donnée de tube, et non munis d'un collier de correction, on constate, dès qu'on a dépassé la distance voulue, une diminution notable dans la netteté de l'image, et on voit cette netteté réapparaître quand cette distance

est de nouveau amoindrie. Selon moi, il existe encore une difficulté réelle à déterminer la position la plus favorable à la meilleure action de l'*amplificateur;* cependant, en s'armant de patience, on arrive généralement à vaincre cette difficulté.

Quand on fait des essais avec des Diatomées concassées, on voit, dans les épreuves fournies par les clichés négatifs, ainsi que l'a fort bien remarqué le D[r] Cox, d'Amérique, que les ponctuations ou les aires ne viennent pas dans les photographies avec l'aspect qu'elles présentent à l'œil armé du microscope, mais avec des apparences contraires. Les ponctuations, par exemple, qui devraient sortir en noir sur l'épreuve, y viennent blanches; le D[r] Cox avait attribué cette contradiction à un manque de concordance entre les foyers lumineux et chimiques, bien que ses efforts pour légitimer cette hypothèse n'aient pas réussi. On doit peut-être attribuer ce renversement de l'image à un temps de pose excessif ou au défaut de correction des objectifs, si la chaleur développée par la lumière employée à l'éclairage de l'objet n'est pas elle-même l'unique cause de cette curieuse variation du foyer. Quant aux corrections à donner par l'opticien aux objectifs, j'ai toujours constaté que la meilleure à demander pour les recherches microscopiques était le rouge clair et le vert pâle, et non l'association des rayons bleus et jaunes.

En terminant cet article, peut-être trop long, je voudrais espérer que les remarques qu'il renferme, suggérées par une expérience de vingt-cinq ans, pourront être utiles aux débutants.

DE L'ANALYSE MICROSCOPIQUE DE L'AIR

AU MOYEN DE FILTRES SOLUBLES

PAR

Le Dr P. MIQUEL.

Depuis l'année 1876, je m'applique avec persévérance à perfectionner les diverses méthodes d'investigation relatives à l'analyse des organismes atmosphériques, en profitant, soit des enseignements que me fournit la pratique journalière, soit des modifications heureuses introduites dans cette partie de la science micrographique par les savants adonnés à ces mêmes recherches.

Pour ma part, j'ai successivement employé pour l'analyse microscopique de l'air : le procédé des ballons scellés de M. Pasteur, la méthode des appareils à boules, des tubes à tampons d'amiante et de coton de verre, le procédé des matras barboteurs, et enfin celui des filtres, formés de matières solubles. En pesant bien les avantages et les inconvénients de ces procédés, et de ceux qu'on a publiés tant en Angleterre qu'en Allemagne, je suis amené à déclarer que la méthode basée sur la filtration de l'air à travers les substances solubles stérilisées répond le mieux aux exigences de la pratique, et se montre en même temps la plus simple et la plus générale.

C'est je crois à Schrœder et Van Dusch (1) qu'on doit l'introduction du coton dans la pratique des laboratoires de microscopie. Ces auteurs se sont servi de la ouate pour préserver les liquides stérilisés de l'accès des impuretés et des germes de l'atmosphère. M. Pasteur, dès 1860,

---

(1) Schrœder et Van Dusch. — *Annalen der chimie und pharmacie* (1854).

songea à utiliser cette substance pour l'analyse qualificative des germes de l'air; mais, comme les poussières arrêtées par les filtres de coton pouvaient difficilement être amenées sous le microscope, M. Pasteur employa le coton soluble (*fulmicoton*). Ce coton introduit sous la forme de tampon suffisamment serré dans un tube de verre, on pratiquait à travers ce filtre l'aspiration d'un volume d'air considérable; l'aspiration terminée, la bourre était dissoute dans un mélange d'alcool et d'éther sulfurique, enfin les poussières, soigneusement lavées et décantées, étaient amenées sous le microscope à l'état de préparation. Pour démontrer que l'altération des liquides était bien due aux poussières de l'air, M. Pasteur ensemençait en bloc au moyen d'un dispositif bien connu des panspermistes, des bourres semblables contaminées par les impuretés atmosphériques. Vers la même époque, ce savant signala la commodité qu'il résulterait pour l'analyse de l'air de l'emploi des bourres solubles formées de laine de sucre ou d'un silicate alcalin, mais il n'est pas à ma connaissance que cette idée ait été réalisée. Cette méthode des filtres solubles dans l'eau fut donc abandonnée avant même d'avoir été essayée. D'ailleurs à cette époque, il n'était pas encore question du dosage quantitatif des germes des bactéries, on s'estimait heureux de pouvoir montrer aux hétérogénistes quelques corpuscules ronds, ou quelques spores de moisissures dont l'origine atmosphérique n'était pas révocable en doute.

Plus tard, vers 1879 (1), je substituai dans la pratique des laboratoires les tampons d'amiante et de coton de verre aux bourres de ouate, par la raison que ces substances, formées de silicates peu fusibles, résistaient sans roussir et sans diminuer de volume aux stérilisations sèches à 180 et 200°. M. de Freudenreich, le commandant Moreau et moi, appliquâmes dès 1883 ces sortes de filtres au dosage des atmosphères éloignées des laboratoires. M. de Freudenreich se servit des bourres de coton de verre pour recueillir les germes aux sommets élevés de plusieurs montagnes de

---

(1) *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'année 1880.

la Suisse (1). M. Moreau et moi nous fîmes surtout usage des tubes à tampons d'amiante pour le dosage des atmosphères marines dans plusieurs voyages effectués de Bordeaux à la Plata et de Marseille à Odessa et Alexandrie (2).

Ce procédé employé par nous consiste à introduire dans des tubes de la forme indiquée par la *fig. 1,* trois bourres d'amiante ou de coton de verre : *A, B, C;* les premières, *A, B,* sont légèrement triturées au mortier ou pétries entre la pulpe des doigts, de façon à diminuer la grandeur des interstices compris entre les fibres. La dernière bourre *C* se trouve placée vers l'extrémité ouverte, de façon à prévenir la contamination des bourres *A* et *B*, pendant le transport; le tampon *A* suffit généralement à retenir toutes les poussières; si plusieurs germes le franchissent, ils sont arrêtés par le second *B*. Quoi qu'il en soit, l'expérience est conduite de la façon suivante: le tube scellé effilé en pointe est d'abord porté deux heures vers 200°, on se sert pour cela d'un bain d'air, on opère à la fois sur 200 à 300 tubes qui, une fois refroidis, sont réservés pour l'usage. L'opérateur, parvenu sur les lieux, fixe le tube sur un support de façon que sa pointe soit dirigée du côté d'où vient le vent. Le tube d'aspiration placé à l'extrémité ouverte *C* du tube, on chauffe la pointe effilée, qu'on brise ensuite avec un instrument flambé, l'air est dirigé à travers les bourres, puis le tube est de nouveau scellé. Il faut avoir soin de mesurer le volume d'air qui a traversé les bourres, et, suivant les cas, on emploie soit un compteur à gaz sec, soit un compteur à gaz humide; l'aspiration peut être produite par des pompes maniées à la main, procédé fort peu recommandable, qu'on remplace généralement par les trompes à eau, les trompes à vapeur, ou par l'utilisation



Fig. 1. — Tube à bourres.

(1) De Freudenreich. — *Semaine médicale* du 11 septembre 1883. — *Journal de Genève* du 15 octobre 1883. — *Archives des Sciences physiques et naturelles* du mois de novembre 1884.

(2) Miquel et Moreau. — *Semaine médicale* du 6 mars 1884. — *Annuaires de l'Observatoire de Montsouris* pour les années 1885 et 1886.

du vide produit dans le condenseur des machines à vapeur, etc. Les tubes revenus au laboratoire, on procède au dosage des bactéries arrêtées par les bourres *A* et *B*.

La pointe du tube scellée est légèrement flambée, tandis qu'on chauffe fortement l'extrémité ouverte *C*, de façon à détruire non-seulement les germes à l'extérieur du tube, mais ceux qu'il renferme intérieurement, de l'extrémité ouverte à la bourre C, qui est elle-même assez fortement chauffée pour être complètement stérilisée. La bourre *C* est alors retirée avec un fil de métal porté au rouge et spécialement contourné pour cet usage. Ce premier temps accompli, on casse la pointe effilée, puis, au moyen d'une tige rigide, flambée et refroidie, on projette les bourres *A* et *B* dans un matras contenant un volume connu d'eau purgée de germes à 110°. M. de Freudenreich a pour habitude de pratiquer à ce moment un broyage préalable des bourres dont on peut, il me semble, se passer si on laisse du côté de la pointe effilée une ouverture de faible diamètre, à travers laquelle les bourres ne peuvent sortir du tube qu'après avoir été presque pulvérisées. Ces tampons ainsi détruits et amenés au contact de l'eau, on agite fortement le vase et on procède au dosage des germes comme s'il s'agissait du dosage des microorganismes répandus dans les eaux.

Si je suis entré dans les détails techniques de ce procédé de numération des germes de l'air, c'est afin de n'y plus insister dans la suite, et aussi pour démontrer que, dès l'année 1883, les manipulations qu'il nécessite, et que plusieurs auteurs donnent comme *nouvelles*, étaient parfaitement connues et fidèlement pratiquées à cette époque.

Le Dr Pétri (1) est un des savants qui ont le mieux compris le bénéfice qu'on pouvait retirer de notre procédé; cependant les filtres d'amiante et de coton de verre, ayant été déjà employés, il a jugé utile et plus inédit de les remplacer par le sable, comme on aurait pu, de même, se servir du verre pilé ou de quelques matières analogues. Ces filtres de sable contaminés par les poussières de l'air, M. Pétri les jette dans deux à trois boîtes de cristal contenant de la

---

(1) Pétri. — *Zeitschrift für Hygiene*, B. III, 1887.

gélatine fondue. Là, les colonies se forment en grand nombre, et l'expérimentateur se trouve malheureusement contraint de faire le dénombrement prématuré des germes éclos bien avant que toutes les bactéries ou les moisissures aient eu le temps d'accuser leur présence par la formation de taches microphytiques; c'est évidemment là le défaut de cette méthode, défaut auquel on ne peut remédier qu'en employant mon procédé *mixte* (1), qui consiste à fractionner le sable ou l'eau du lavage des tampons dans un nombre considérable de flacons de gélatine, de façon à permettre à chaque semence d'incuber à l'aise pendant 15 jours à un mois à l'abri des liquéfactions intempestives, des microbes envahissants et des substances nuisibles que sécrètent plusieurs bactéries, et qui, en pénétrant dans la masse de la gélatine, peuvent suspendre ou empêcher la germination des espèces trop voisines.

Le Dr Percy Frankland, sans avoir eu vraisemblablement connaissance des recherches de M. de Freudenreich, sur les glaciers des Alpes (1883-1884), et de mes études sur l'air marin, exécutées en 1884-1885, en collaboration avec le commandant Moreau, a préconisé de nouveau, en 1887 (2), le procédé des bourres de coton de verre qui est en effet très facile à appliquer, et qui nous a toujours donné d'excellents résultats. Pour le dénombrement des germes retenus dans les bourres, le Dr Percy Frankland adopte le procédé du Dr Pétri sans modifications dignes d'être mentionnées.

Tel est, en résumé, l'historique du procédé d'analyse microscopique de l'air au moyen des filtres formés de substances insolubles, procédé qui me paraît inférieur et moins pratique que celui dont je vais parler.

L'introduction dans l'eau ou la gélatine des substances filtrantes insolubles présente, il est vrai, d'assez faibles inconvénients; cependant, quelques germes peuvent rester emprisonnés dans les fibres mal disjointes de la laine de

---

(1) Miquel. — *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'an 1888. — *Revue d'Hygiène*, mai 1888. — *Annales de l'Institut Pasteur*, Juillet 1888.

(2) Percy Frankland. — *Philosophical transactions of the Royal Society of London* for 1887, et *Zeitschrift für Hygiene*, 1887.

verre ou de l'amiante. D'ailleurs, la distribution de ces bourres émulsionnées n'est pas toujours facile au moyen des pipettes qui servent habituellement au fractionnement; la présence de ces fibres enchevêtrées, ou du sable dans la gelée, peut encore masquer quelques colonies; en tout cas, elles donnent dès l'abord aux cultures un aspect désagréable.

Après M. Pasteur, qui, comme on l'a vu, s'est servi du coton soluble, le Dr H. Fol (1) a préconisé comme filtre le sel marin convenablement pulvérisé. Le sel ordinaire serait, en effet, d'un très bon usage, s'il était moins déliquescent et si on avait la certitude que les germes fixés par le liquide qui recouvre les cristaux du chlorure de sodium humide n'eussent pas à souffrir de l'action caustique de cette eau saturée.

En 1886 (2), M. le professeur Gautier s'est servi pour le même usage du sulfate de soude préalablement déshydraté. Après de nombreux essais, je dois à la vérité de déclarer que je ne connais pas, hormis le sucre, d'autre substance qui puisse convenablement le remplacer.

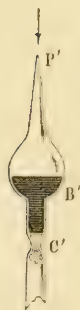


Fig. 2. Filtre de M. le professeur Gautier.

La *fig. 2* représente l'appareil filtrateur employé par M. Gautier. Le sulfate de soude, privé de son eau de cristallisation, est introduit dans une ampoule munie d'une pointe; le sel déposé en *B'*, sur une bourre *C'*, on détermine le passage de l'air en aspirant par la tubulure inférieure. Ce savant opère la dissolution du sel contaminé en dirigeant un certain volume d'eau stérilisée à travers l'ampoule, dans la même direction que l'air aspiré; enfin, cette eau, recueillie dans des vases purgés de germes, est soumise à l'étude et au dosage des organismes atmosphériques qu'elle contient.

---

(1) H. Fol. — *La Nature*, 1885, 1er semestre.

(2) A. Gautier. — *Revue scientifique*, mai 1886.

Je préfère employer l'instrument dessiné *fig. 3,* qui se compose d'une simple pipette à renflement cylindrique dont la tubulure étranglée à la partie inférieure porte en *K* et en *O* deux tampons de coton de verre. Sur la bourre *O* repose le sel *B*. L'air est également introduit par la pointe *P* et, quand l'opération est terminée, la pipette, rapidement flambée à l'extérieur, est introduite dans un matras d'eau stérilisée; le sel tombe vers la pointe *P,* se dissout rapidement s'il est très soluble, lentement s'il l'est peu; enfin, au moyen de quelques aspirations répétées, on lave l'ampoule de la pipette, puis le liquide est dosé, soit par la méthode du fractionnement des plaques, soit par le procédé *mixte* (fractionnement dans la gélatine).



Fig. 3. Filtre pipette.

Depuis le mois de septembre de l'année qui vient de s'écouler, j'ai supprimé dans mes appareils le renflement ampulaire, afin de diminuer le poids de sel employé et la pointe effilée qui présente plusieurs inconvénients sérieux. D'abord, cette terminaison capillaire retient, au moment de l'introduction de l'air, plusieurs germes que détruit l'opération du scellement à la flamme; de plus, si la pipette est d'un faible volume et le sel peu soluble, la dissolution s'éternise. La pointe est de même sujette à être obstruée par les molécules salines, et son dégagement par aspiration brusque peut occasionner des accidents opératoires: projection de liquide sur les bourres, etc.

La forme lointainement indiquée par la *fig. 4* est de beaucoup préférable; *T* est la bourre préservatrice, en *B* est une seconde bourre destinée à soutenir la substance filtrante; ce tube étranglé, long de 20 centimètres environ et large de 5 à 6 millimètres, possède un capuchon rôdé *C,* qu'on enlève pendant l'aspiration pratiquée par le bout opposé. M. de Freudenreich a, le premier, employé ce mode de fermeture à l'extrémité des tubes, dont l'idée lui a été suggérée par le capuchon rôdé des matras de M. Pasteur.



Fig. 4. Tube filtrateur à capuchon rôdé.

Il est de même aisé de saisir ici le *modus faciendi :* le capuchon enlevé au moment de l'analyse, on verse la substance filtrante dans l'eau stérilisée; si, par suite d'un état particulier de l'atmosphère, les grains du filtre avaient contracté entre eux une certaine adhérence, en un mot, s'ils se refusaient à couler comme les poudres sèches, au moyen d'une tige flambée introduite par l'extrémité *T*, après l'ablation des bourres, on les forcerait à tomber dans le véhicule; enfin, un lavage par aspiration termine cette manipulation.

Les appareils usités pour l'analyse de l'air par filtration à travers les substances solubles étant décrits, il me reste à donner quelques détails sur l'ensemble des opérations qui se rapportent à ce mode d'investigation.

Choix de la substance soluble. — Cette substance doit d'abord être inaltérable et infusible à 170-180°, elle doit montrer un pouvoir antiseptique très faible, et être aussi soluble que possible dans l'eau pure.

Parmi les substances infusibles entre 170-180°, qui peuvent être appliquées au dosage des germes aériens, je citerai le sucre, le sel marin, le phosphate de soude, les sulfates de soude et de magnésie. A sa sortie du bain d'air chaud, le sucre présente bien une teinte légèrement jaunâtre, indice d'un faible commencement de caramélisation; mais ce corps n'est pas sensiblement atteint dans ses propriétés physiques, sa solubilité reste très grande, et son pouvoir hygroscopique n'est pas augmenté. Le sel marin devra être chauffé au préalable à 200°, pendant quelques heures, afin de le priver de son eau d'interposition qui le fait crépiter quand on le chauffe ; tandis que le phosphate de soude, les sulfates de soude et de magnésie, qui subissent la fusion aqueuse, à une température relativement basse, devront être au préalable portés vers 300° et desséchés à cette température dans une capsule de platine ou dans une simple casserole de fer.

Le pouvoir antiseptique des sels doit également être pris en sérieuse considération; les combinaisons métalliques du fer, du zinc, du plomb, du cuivre, et surtout des métaux nobles doivent être rejetées ainsi que les corps organiques toxiques. Parmi les composés chimiques que

j'ai essayés, le sel marin est de tous celui qui possède le pouvoir antiseptique le plus prononcé. Comme je l'ai démontré, cette substance arrête la putréfaction spontanée du bouillon à la dose de 165 gr. par litre; mais j'ai établi, en même temps, qu'employée en petite proportion (5 à 7 pour 1000) elle exalte la nutritivité du bouillon à l'égard des bactéries. Le phosphate et le sulfate de soude, le sulfate de magnésie sont dans le même cas; à faible dose, ils favorisent l'éclosion et la multiplication des bactéries. Mes essais ont porté sur d'autres sels, notamment sur les nitrates des bases alcalines qui ne montrent pas plus de qualités que les substances déjà nommées pour la confection des filtres.

La propriété de déliquescer ou d'effleurir, que possèdent certains corps, doit de même attirer l'attention de l'opérateur. Le sucre pulvérisé n'entre jamais en déliquescence proprement dite, c'est-à-dire qu'il ne fond pas sous l'action de la vapeur d'eau atmosphérique, alors que plusieurs sels, tel que le chlorure de calcium, peuvent l'attirer à eux en grande quantité; cependant, au contact prolongé d'un air suffisamment humide, les grains de sucre peuvent contracter une adhérence assez forte pour s'agglomérer en une seule masse qui reste, d'ailleurs, poreuse et douée de la perméabilité indispensable aux filtres dont il est ici question. Le sel marin, au contraire, a trop de tendance à s'humidifier; pour cette raison, on devra s'abstenir de l'employer. Le sulfate de magnésie anhydre présente une propriété inverse des plus gênantes; sous l'action de la vapeur d'eau atmosphérique, il tombe en efflorescence, perd le grain qu'on lui a d'abord donné, et se réduit partiellement en une poudre excessivement fine qui vient obstruer les pores et rendre le passage de l'air de plus en plus pénible, alors même que la trompe peut produire un vide de 30^{cm} de mercure. Une aspiration, équivalente à l'élévation d'une colonne de 2 mètres d'eau, doit généralement suffire. J'ajouterai, en outre, que le sulfate de magnésie anhydre est trop peu soluble.

Restent le phosphate et le sulfate de soude; le premier de ces deux sels est inférieur à tous égards au sulfate, il se

montre moins soluble que lui, et a plus de tendance à s'agglomérer en une masse unique. Quelle que soit, d'ailleurs, la substance employée, il est des jours fort rares à Paris où tous les filtres solubles et insolubles sont impropres à retenir les poussières de l'air; je parle des époques où un brouillard intense s'appesantit sur le sol, et vient mécaniquement déposer des gouttelettes d'eau sur les bourres de coton de verre, de sable, ou sur les matières solubles; dans ce cas, l'expérience est impraticable, et on doit recourir à la méthode du barbottement; aucun procédé n'est d'ailleurs parfait, la méthode du barbottement n'est pas à son tour applicable pendant les froids rigoureux de l'hiver.

Préparation des filtres. — La substance choisie, bien desséchée, est pulvérisée grossièrement dans un mortier, puis on la jette sur un tamis dont le nombre des fils est compris entre 15 à 18 par centimètre; la poudre qui passe à travers ces premières mailles est reçue dans un second tamis plus fin, possédant 22 à 25 mailles par centimètre, la poudre très ténue s'échappe, et il reste sur cette dernière toile des grains de substance ayant un diamètre assez voisin de 1/2 millimètre.

Quand on a obtenu une quantité suffisante de poudre, on procède au remplissage des tubes.

Les tubes, garnis de leur double bourre de coton de verre, sont chauffés légèrement et privés de toute humidité au moyen du courant d'air rapide d'une soufflerie. On introduit alors dans chacun d'eux un à deux grammes de la substance soluble pulvérisée. La hauteur du filtre varie avec le diamètre du tube employé; je conseille d'en choisir de tels, que cette hauteur atteigne 8 à 10 centimètres. Il reste enfin à stériliser au bain d'air vers 170 à 180° les petits appareils ainsi préparés.

Expérience. — Si l'atmosphère à doser en microphytes est éloignée du laboratoire, on fixera le capuchon rôdé au corps du tube au moyen d'un anneau assez large taillé dans un tube de caoutchouc de grosseur voulue, on évitera ainsi les accidents qui, pendant le transport, peuvent

provenir du déplacement du capuchon. Au moment de l'expérience, on maintiendra le tube dans la position verticale, et, par quelques petites secousses, on déterminera le tassement de la matière pulvérulente, le tube sera fixé dans cette position ou suivant une inclinaison voisine de la verticale; s'il en était autrement, si, par exemple, le tube était placé horizontalement, ou suivant un angle moindre de 50 à 60°, les quelques chocs qu'il recevrait pendant sa mise en place suffiraient pour déterminer une galerie qui règnerait tout le long de la colonne du filtre, et par laquelle une partie de l'air passerait sans se tamiser. Dans les expériences bien conduites, la bourre de coton de verre, qui supporte la substance filtrante, ne doit jamais accuser de microphytes quand on l'ensemence dans du bouillon stérilisé. Cette contre-expérience devra être pratiquée à toutes les analyses, et donner des résultats négatifs. Mieux que le bouillon, l'emploi de la gélatine pourra, dans ce cas, démontrer si le pouvoir infestant de la bourre, qu'on observe parfois dans les essais les mieux faits, tient à un microbe fortuit, introduit pendant les manipulations, ou à une collectivité de germes venus jusqu'à la bourre par suite du mauvais état du filtre.

Dosage des germes. — Après le passage de l'air, la substance soluble est projetée dans un matras d'eau stérilisée. Si on a lieu de croire que le chiffre des germes retenus est considérable, appréciation qu'on peut baser sur la nature de l'atmosphère explorée et sur le volume d'air aspiré, on emploiera des matras contenant 500 à 1.000 centimètres cubes d'eau microscopiquement pure. Dans mes expériences journalières à la caserne Lobau, je filtre environ dans 24 heures 240 litres d'air qui accusent en moyenne 1.000 à 1.500 germes, et je dilue les poussières abandonnées par ce volume d'air dans un matras renfermant 500^{cmc} d'eau stérilisée, ce qui porte environ à 2 ou 3 microbes par gramme la richesse de cette eau qu'on distribue en la fractionnant par gouttes dans des conserves de bouillon. Quand je me sers du procédé que j'ai appelé *mixte* (fractionnement dans la gélatine), j'introduis d'emblée un gramme de l'eau contaminée dans 24 conserves

de gélatine fondue à 35° et renfermée dans un flacon à fond plat, de la forme représentée par la *fig. 5*. J'emploie habituellement tous les jours ces deux méthodes comparativement, afin d'être fixé sur leur valeur relative, et de contrôler les résultats qu'elles fournissent.

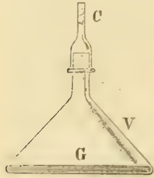


Fig. 5. Flacon conique à fond plat et à capuchon rôdé, à moitié grandeur.

Par un calcul élémentaire que tout le monde saisit, on détermine la richesse totale de 500cmc d'eau en microphytes d'après le chiffre des microorganismes décelés par la fraction du liquide analysé. En adoptant cette façon d'opérer, le volume considérable d'eau qui reste à la disposition de l'expérimentateur peut servir à des études qualitatives diverses, ce qui, malheureusement, n'est pas possible avec mes anciens procédés et avec les méthodes beaucoup plus récentes publiées par Hesse, Pétri, Frankland, de Giacomi, Straus et Wurtz, dans lesquelles tous les germes recueillis sont uniquement utilisés au dénombrement.

Cependant, il est fort important que les analyses de l'air soient à la fois quantitatives et qualitatives, car beaucoup de microbes s'accommodent mal de la basse température à laquelle on est forcé de maintenir les cultures sur gélatine et qui se montre aussi parfois impropre à leur éclosion. Devant ces faits, on admettra alors sans difficulté qu'il faut pouvoir varier à volonté les conditions où les organismes aériens doivent être placés, d'où la nécessité d'en conserver une réserve pour ces expériences complémentaires.

Quand on prévoit que les atmosphères sont peu riches en microbes, on diminue la dilution et on se sert de matras contenant 100 et même 50cmc d'eau stérilisée. La quantité de substance soluble s'élevant au maximum à 2 grammes, et 1 centimètre cube d'eau étant au plus distribué dans 10 centimètres cubes de bouillon ou de gélatine, la teneur du milieu nutritif en substance filtrante atteint à peine 2 pour 1000. Nous avons dit qu'à cette dose le sulfate et le phosphate de soude, le sulfate de magnésie

et le sel marin exagèrent plutôt qu'ils ne diminuent le pouvoir nutritif des conserves à l'égard des bactéries.

Le sucre, je dois le dire en passant, même à cette faible dose, favorise considérablement le développement des moisissures, et les chiffres des mucédinées qu'on obtiendra, selon qu'on emploiera cette substance où les précédentes, différeront totalement. On doit donc se tenir en éveil contre cette cause de divergence qui pourrait s'observer entre les résultats obtenus par divers observateurs qui auraient adopté l'usage de tel ou tel filtre soluble.

Remarques. — On discute beaucoup sur le meilleur moyen de déterminer la richesse réelle d'une atmosphère en microgermes. Quelques auteurs, au nombre desquels le Dr Hesse, pensent qu'il suffit d'opérer sur quelques litres; d'autres, avec le Dr Pétri, préconisent l'aspiration rapide d'un volume d'air considérable. En laissant de côté les critiques qui s'adressent aux procédés, je dirai que la quantité d'air sur laquelle doit porter l'analyse est étroitement subordonnée au but qu'on veut atteindre.

Si on désire établir la teneur en germes d'une atmosphère à un instant déterminé, on devra, dans un court espace de temps, aspirer la plus grande quantité d'air possible; si, au contraire, on désire obtenir sa composition moyenne, on pourra se contenter d'aspirer l'air avec lenteur pendant 6, 12 ou 24 heures, c'est la méthode du prélèvement varié des échantillons dans une masse dont on veut connaître la composition approximative. Pour l'air, cette méthode s'impose depuis que j'ai démontré que la richesse de l'atmosphère libre en bactéries était soumise en temps normal à des fluctuations diurnes profondes et régulières (1).

L'inégalité des résultats observés dans le tableau suivant prouve en effet que la composition de l'atmosphère, calculée d'après une expérience de la durée d'une heure ou d'un jour, concorde rarement.

La première colonne de ce tableau exprime en chiffres

---

(1) P. Miquel. — *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour les années 1886-87.

romains le numéro d'ordre des expériences; la seconde, la richesse de l'air en bactéries, d'après le chiffre de germes trouvés dans 10 litres sur la place Saint-Gervais, à Paris, de midi à une heure; la troisième colonne, la richesse de l'air calculée le même jour, d'après une expérience d'une durée de 24 heures, sur un volume aspiré uniformément, variant entre 225 et 234 litres.

Expériences	*Bactéries par mètre cube*	
	Dosage opéré après une aspiration d'une heure	Dosage effectué après une aspiration de 24 heures
I	3.800	12.900
II	5.300	9.200
III	6.300	15.600
IV	2.200	8.300
V	7.400	5.000
VI	9.500	13.700
Moyennes	5.750	10.800

Dans le premier cas, l'atmosphère accuse un chiffre de microbes presque deux fois plus faible que dans le second; cela tient à ce que les analyses pratiquées de midi à 1 heure de l'après-midi ont été faites au moment où l'atmosphère parisienne se purifie habituellement pour montrer une richesse minimum de bactéries entre 2 à 3 heures du soir.

Je suis persuadé que si j'avais procédé à ce dosage de 8 à 9 heures du matin, ou vers 6 à 7 heures du soir, heures de la richesse maximum de l'air de Paris en microbes, j'aurais obtenu des résultats inverses, c'est-à-dire beaucoup plus de germes dans la deuxième colonne que dans la troisième.

Le procédé des filtres solubles le cède-t-il en exactitude à la méthode du barbotement ? L'expérience répond négativement; dans deux séries d'essais exécutés simultanément avec un filtre au sulfate de soude et un barboteur à eau, j'ai obtenu les chiffres ci-après indiqués.

Expériences	*Richesse en bactéries*	
	Décelée par le matras barboteur	Décelée par l'emploi des filtres solubles
I	2.500	3.900
II	3.700	3.300
III	4.000	4.200
IV	6.800	6.200
V	7.400	8.100
VI	3.500	4.100
Moyennes	4.650	4.970

La faible différence qui s'observe entre les moyennes des deux dernières colonnes du tableau précédent établit donc que le procédé des tubes à filtre soluble donne des résultats aussi exacts que la méthode reconnue jusqu'ici la plus précise.

En terminant cet article, je juge inutile d'insister sur les qualités que présentent les tubes à filtres solubles. Ils sont peu encombrants, peu fragiles, facilement transportables; ils permettent à l'observateur de retarder de quelques heures à plusieurs jours le moment de l'analyse, ce qui ne saurait être fait avec les matras barboteurs de tout genre, les procédés à la gélatine, etc.... Il ressort donc que, des méthodes d'analyse de l'air actuellement en usage, celle à laquelle je viens de consacrer quelques pages mérite le plus de faveur, jusqu'au jour où à son tour elle devra disparaître devant un procédé plus simple et plus parfait.

LES DIFFÉRENCIATIONS FONCTIONNELLES
CHEZ LES ÊTRES UNICELLULAIRES

PAR

FABRE-DOMERGUE

L'on trouve chez tous les êtres, quelle qu'en soit la constitution, qu'ils soient uni- ou pluricellulaires, un ensemble de fonctions destinées à en assurer la nutrition, la reproduction, la vie, en un mot. Chez les êtres pluricellulaires, les éléments constituants, les cellules, se différencient de bonne heure pour former des tissus, des organes au moyen desquels s'accomplissent ces fonctions. Mais, parallèlement à ces formes chez lesquelles se trouvent constamment appliquées les lois de l'association et de la division du travail, nous voyons une grande classe d'êtres, formés d'une seule cellule, d'organisation parfaitement élémentaire, puisqu'elle ne représente, par sa constitution fondamentale, que l'un des nombreux éléments qui concourent à former le plus rudimentaire des métazoaires ; et pourtant chez ces êtres se retrouvent également les mêmes fonctions, remplies ici non plus par des différenciations d'éléments multiples, mais par l'unique cellule qui les compose tout entiers. Or, de même que pour les métazoaires, on peut aussi chez les protozoaires, en s'élevant des formes les plus simples aux formes les plus compliquées, retrouver une tendance au perfectionnement qui fait que les organes temporaires, parfois même accidentellement formés, tels que les vacuoles digestives, les vésicules contractiles se localisent, se différencient dans la cellule elle-même, au point de devenir de véritables organes en tout comparables par leurs fonctions à ceux des animaux supérieurs.

Les protozoaires qui présentent au plus haut degré ces différenciations fonctionnelles sont incontestablement les infusoires ciliés, et, parmi ces différenciations, les plus intéressantes sont celles qui assurent la nutrition et la respiration de la cellule, je veux parler des systèmes digestif et

excrétoire, des vacuoles alimentaires et des vésicules contractiles. Pour l'historique de ces questions je renvoie à l'un de mes travaux antérieurs (1). Je croyais y avoir suffisamment expliqué comment devaient être considérés certains faits intéressants de l'anatomie des ciliés, tels que le tube digestif du *Didinium*, le système vasculaire contractile du *Cyrtostomum leucas*, etc. Dans un travail tout récent (2) M. Maupas, cependant, a cru devoir revenir sur cette question, sans toutefois y apporter de nouveaux faits, et la façon même dont il réfute mes arguments me prouve que notre malentendu repose sur une simple question de définition; c'est pourquoi je demande à compléter ici, et surtout à préciser mes explications. Le *Didinium nasutum* — et je prends cet infusoire parce que chez lui la différenciation est très accentuée — présente au moment de l'ingestion des proies une traînée claire, axiale, résultant de la formation d'un canal allant de la bouche à l'anus, canal dont l'existence est confirmée : 1° par la rétraction de ses parois sous l'influence de l'iode; 2° par la marche du bol alimentaire qui suit toujours un trajet rectiligne de la bouche à l'anus. Or, M. Maupas nie l'existence de ce canal, en disant qu'il n'a point de parois propres; il est vrai qu'il nie également qu'une bulle d'air ait des parois. Mais comment nommera-t-il la ligne de démarcation qui sépare le contenu aqueux du tube digestif du *Didinium* du plasma ambiant et celle qui sépare l'air de l'eau dans la bulle d'air? Supposons une grosse vésicule aqueuse incluse dans une masse de gélatine, et un animal nageant dans cette vésicule, contre quoi se heurtera-t-il dans ses efforts pour s'en échapper ? N'importe qui répondra : contre ses parois. Ni M. Balbiani, qui le premier a signalé cette importante différenciation, ni moi-même n'avons eu l'idée d'admettre pour cela une différenciation structurée comme une membrane ou un revêtement ectoplasmique contre ces parois. Mais nier un fait aussi palpable

---

(1) Fabre-Domergue. — *Recherches anatomiques et physiologiques sur les Infusoires ciliés* (*Ann. des Sc. nat. Zool.*, t. V, p. 1 - 144).

(2) Maupas. — *Recherches expérimentales sur la Multiplication des Infusoires ciliés* (*Arch. de Zool. exper.*, 1888, Fasc. II, p. 165).

reviendrait à nier l'existence d'une bulle d'air parce qu'elle ne serait pas séparée de l'eau par une couche quelconque de nature spéciale et différente de l'air et de l'eau.

Ce que je tiens à bien établir c'est que, selon la croyance que j'ai exprimée dans mon travail antérieur, l'on remarque chez les ciliés une différenciation progressive intra-cellulaire par laquelle les aliments tendent à suivre une marche déterminée de la bouche vers l'anus, en passant par les mêmes points, et que l'on observe le long du trajet de ces aliments une adaptation du protoplasma qui s'ouvre toujours dans le même sens devant la poussée des ingestas. Ce n'est pas seulement chez le *Didinium* que s'observe cette différenciation — je ne dis pas cette structure. Chez tous les ciliés à protoplasma un peu compact on retrouve la même tendance, et j'ai vu chez un grand nombre d'entre eux, chez des *Prorodons*, des *Balantidium*, *même sur le vivant*, une traînée claire plus ou moins sinueuse, allant de la bouche vers l'anus.

Cette différenciation du protoplasma se retrouve d'ailleurs, et d'une manière bien plus accusée encore, dans des cellules appartenant à des métazoaires élevés en organisation. Chez la fourmi, par exemple, les cellules des glandes salivaires présentent un véritable réseau de canalicules chitineux, véritables drains destinés à conduire au dehors les produits de la sécrétion, et l'on ne peut dès lors s'étonner de voir se produire dans une cellule unique, représentant par conséquent un individu, une différenciation aussi faible que celle qui existe chez les ciliés. Il n'y aurait même rien d'étonnant qu'il se trouvât une espèce chez laquelle la bouche serait réunie à l'anus par un tube continu résultant de l'invagination de l'ectoplasma dans les ouvertures buccales et anales. Le *Balantidium coli* est bien près de présenter cette structure.

La différenciation fonctionnelle est bien plus accusée encore en ce qui concerne le système excrétoire. Le remarquable réseau contractile du *Cyrtostomum* (1) en est

---

(1) Ce réseau a été découvert simultanément, et d'une façon indépendante, par MM. Bütschli, Balbiani et par moi. Le travail de M. Balbiani où se trouve consignée cette observation n'a point encore paru, mais je me fais ici un devoir de reconnaître que ses observations datent de la même époque que les miennes.

l'exemple le plus frappant, mais il n'est que l'expression la plus parfaite d'une structure qui existe chez tous les ciliés, et dont on peut retrouver des traces chez un grand nombre de formes. Je l'ai observée récemment dans la partie antérieure du *Stylonichia mytilus*, et l'ai également signalée chez le *Prorodon niveus*. On peut peindre cette structure en disant que la couche la plus interne de l'ectoplasma jouit de la propriété de collecter les liquides impropres à la vie de l'être et secrétés par le reste du corps.

Comment peuvent s'accorder ces différenciations et la structure sinon homogène du moins uniforme du protoplasma? Cette question est facile à résoudre en ce qui concerne le système contractile logé dans la couche dense et solide ectoplasmique, mais on comprend plus difficilement un tube digestif creusé dans une masse plus ou moins mobile. Il me semble rationnel d'admettre que la différenciation est en raison même de la densité du plasma et que, quelle que soit la structure de celui-ci, qu'il soit bulleux, aréolé, alvéolaire ou réticulé, il présente toujours, au moins dans le voisinage des parties différenciées, une consistance et une immobilité qui, pour n'être pas visiblement indiquées, sont cependant indispensables à la formation des organes.

Je me bornerai aujourd'hui à faire ressortir l'importance de ces deux différenciations, et, si je suis revenu sur ce sujet, c'est pour prouver à M. Maupas que, si j'ai défendu la réalité d'un système digestif rudimentaire chez les ciliés, c'est après une lecture attentive des travaux de M. Balbiani et des siens propres. En tâchant d'éclairer cette question, je ne me suis point permis de l'accuser de légèreté, et me suis borné simplement, comme je viens de le faire ici, à discuter l'interprétation d'un fait d'observation qui ne peut être contesté. M. Maupas m'accuse également (1) de lui contester la découverte de la constitution figurée du protoplasma alors qu'il l'aurait faite, dit-il, « à une époque où les objectifs homogènes étaient encore inconnus. » Je prends la liberté de transcrire ici le passage de mon travail où j'analyse rapidement les découvertes

(1) Maupas, *loc. cit.*, p. 192, note.

de mes devanciers : « En 1883, Maupas figure et décrit un certain nombre de structures réticulées, mais sans généraliser ses observations, et sans y attacher d'importance. » Si j'ai ajouté ce dernier membre de phrase, c'est que, malgré une lecture attentive du travail (1) de M. Maupas, travail que j'ai en ce moment sous les yeux, je n'ai pu y retrouver que la conception du sarcode homogène de Dujardin avec une couche corticale sarcodique et structurée. M. Maupas admet bien que ce sarcode puisse présenter des mailles, mais ces mailles sont pour lui des inclusions, puisqu'il ajoute : « le sarcode est mobile partout et ses courants roulent dans les sens les plus divers dans l'épaisseur des cloisons qui constituent les mailles du réseau. » Un peu plus loin : « le sarcode sans structure histologique du cytosome, etc. » Si, en écrivant ces lignes, l'auteur concevait l'existence d'un réticulum, l'expression a bien trompé sa pensée.

En dernier lieu enfin, et bien qu'il me répugne de faire une revendication, je demanderai à M. Maupas s'il a lu la partie de mon travail concernant l'enkystement, et où j'établis par des expériences que l'enkystement n'est pas toujours dû à la dessication, mais bien plus souvent à des causes qui nous échappent pour la plupart. Parmi ces causes, je cite en premier lieu le manque de nourriture (p. 39, *loc. cit.*) (2), et j'ai le droit de m'étonner en voyant M. Maupas combattre sans me citer l'opinion « devenue classique » de l'enkystement par dessication, et baser ses arguments sur des observations faites longtemps après les miennes. Du reste, je dirai incidemment ici que ce phénomène est loin d'être dû seulement au manque de nourriture, et que l'on observe souvent l'enkystement des Infusoires dans des milieux riches en matières nutritives.

Quant à ce qui regarde le sujet même du travail de M. Maupas, c'est-à-dire de la dégénérescence des ciliés, je m'abstiens d'en parler aujourd'hui, désirant y revenir plus longuement dans l'analyse critique de ce travail (3).

---

(1) Maupas. — *Contributions à l'étude morphologique et anatomique des inf. ciliés* (*Arch. de Zool. exp.*, 1883).

(2) Fabre-Domergue, *loc. cit.*, p. 45.

(3) Maupas. — *Recherches expérimentales sur la Multiplication des Infusoires ciliés* (*Arch. de Zool. exper.*, 1888, Fasc. II, p. 165).

REVUES ET ANALYSES[1]

MARTINAND. — **Étude sur l'analyse des levûres de brasserie** *(Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* CVII, nov. 1888, p. 745).

Le fait, constaté par mes recherches, que quelques-unes des maladies les plus répandues et les plus pernicieuses de la bière sont dues, non pas à des bactéries, mais à certaines espèces de Saccharomyces, a donné un intérêt tout particulier à l'analyse des levûres de brasserie.

En ce qui concerne la levûre basse, j'ai, le premier, indiqué la méthode à suivre : en cultivant, en effet, la levûre de brasserie à 25° et à 15°, on produit de telles différences dans le mode de développement des spores que l'on arrive, par l'emploi de l'une ou de l'autre de ces températures, à déceler la présence de levûres infectieuses *(Compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg,* 1883, 1886 et 1888).

Mes recherches sur la levûre basse, ont été partiellement étendues par M. Martinand à la levûre haute. Celui-ci a expérimenté avec 10 levûres de distillerie, 7 levûres de brasserie et 10 différentes levûres de vin, qu'il réunit sous le nom commun de *Sacch. ellipsoïdeus*. Les expériences ne furent cependant faites qu'à 25°, et, comme on pouvait s'y attendre, M. Martinand arriva au résultat que, dans ces conditions, ses *Sacch. ellipsoïdeus* ne peuvent pas tous être distingués des levûres hautes de culture. Peut-être y serait-on parvenu en employant simultanément la température de 15°, comme cela a été le cas pour la levûre basse de brasserie ; c'est ce que M. Martinand n'a pas fait.

Le point de départ de l'auteur a été la constatation du fait que les levûres de vin ne font pas fermenter les moûts de maltose aussi complètement que les *Sacch. cerevisiæ* et le *Sacch. Pastorianus*. Avec chacune de ces levûres il ensemence un flacon contenant 500 cmc de moût de malt d'orge non houblonné à 25°.

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

Le sixième jour il détermine le maltose non fermenté, et trouve, en opérant avec les levûres hautes de brasserie et de distillerie, qu'il reste 0,64-0,925 °/₀ de maltose de la quantité primitive; avec les levûres de vin, par contre, il en reste 1,86-2,54 °/₀, et avec le *Sacch. Pastorianus*, 0,81-0,97 °/₀. La différence est donc notable entre les *Sacch. ellipsoïdeus* d'une part, et les *Sacch. cerevisiæ* et *Pastorianus* d'autre part.

En remplaçant dans les expériences précédentes le moût de maltose par une solution de sucre de canne interverti, on arrive à des résultats inverses, et les proportions de sucre interverti restées intactes après six jours à 25° sont, en moyenne :

Avec les *Sacch. cerevisiæ*	0,186 °/₀
— *Sacch. Pastorianus*	0,197 °/₀
— *Sacch. ellipsoïdeus*	0,033 °/₀

Les expériences de M. Martinand enrichissent donc notablement notre connaissance des caractères biologiques des Saccharomyces.

Le fait cependant que les espèces ne peuvent pas, dans tous les cas, être différenciées à l'aide d'un seul caractère, mais qu'il faut souvent, pour cela, recourir à leur ensemble, a déjà plusieurs fois été mis en évidence par moi, qui, pour ce motif, ai traité ce problème à différents points de vue. Quelques-unes de ces recherches semblent n'avoir pas été connues de M. Martinaud.

Dr Hansen.

Balbiani. — **Recherches expérimentales sur la Mérotomie des Infusoires ciliés,** 1re partie (*Recueil zoologique*, t. 5, 1er fasc., p. 1-72, pl. 1 et 2).

M. le professeur Balbiani nomme Mérotomie l'opération qui consiste à retrancher d'un organisme vivant une portion plus ou moins considérable, dans le but d'étudier les modifications qui surviennent dans la partie séparée du corps. Il nomme Mérozoïtes les individus résultant de cette division artificielle.

Ses expériences ont porté sur le *Cyrtostomum leucas,* le *Trachelius ovum,* le *Prorodon niveus,* et ont eu pour but principal de rechercher quel était le rôle du noyau dans la vie de la cellule. Chez les trois espèces observées, les résultats ont été parfaitement concordants, et peuvent se résumer dans les propositions suivantes :

1° Un fragment d'individu ou Mérozoïte renfermant le noyau possède seul l'aptitude à se régénérer, c'est-à-dire à reconstituer

un individu complet présentant tous les caractères de l'individu primitif;

2° Cette régénération est déjà complète au bout de 24-48 heures, au plus tard; l'individu régénéré ne diffère d'un individu ordinaire que par ses dimensions plus réduites, dimensions corrélatives à celles du fragment qu'il représentait à l'origine;

3° La régénération de la forme spécifique et des organes a lieu sous l'influence du noyau, car cette régénération ne s'observe jamais chez les fragments dépourvus de noyau;

4° Le noyau tient aussi sous sa dépendance la sécrétion de la membrane d'enveloppe ou cuticule, et c'est par la sécrétion d'une cuticule nouvelle au niveau des parties dénudées du plasma que se fait la cicatrisation de ces parties;

5° Le noyau paraît jouer aussi un rôle dans les phénomènes trophiques du plasma; celui-ci éprouve une désorganisation graduelle, se terminant par la mort, lorsque le noyau lui fait défaut;

6° La désorganisation du plasma se manifeste par son imbibition aqueuse et par sa vacuolisation, la disparition de sa structure stratifiée, l'hypertrophie aqueuse de la vésicule contractile ou son rapetissement dans certains cas, la lenteur et l'irrégulatité de ses pulsations, et, enfin, la destruction du plasma par diffluence;

7° Les fonctions qui ne sont pas immédiatement atteintes par l'absence du noyau sont: le mouvement ciliaire, qui persiste, mais va en s'affaiblissant graduellement jusqu'à la mort; les pulsations de la vésicule contractile qui se comportent de même; la préhension et l'ingestion des aliments; la défécation;

8° Celles qui sont influencées d'une manière douteuse sont la digestion et l'assimilation;

9° La durée de la vie des Mérozoïtes sans noyau est ordinairement de deux à trois jours, mais elle peut s'étendre jusqu'à sept ou huit jours; dans les mêmes conditions, les Mérozoïtes nucléés peuvent vivre près d'un mois après qu'ils se sont régénérés.

La planche II de cet important travail contient des figures de *Stentor cœruleus* soumis à la Mérotomie. Le texte qui doit accompagner ces figures formera, avec d'autres observations inédites, un deuxième mémoire qui fera suite à celui dont nous venons de donner l'analyse.

F. D.

HENNEGUY. — **Note sur un parasite des muscles du** *Palæmon rectirostris* (*Mémoires publiés par la Société Philomathique à l'occasion du centenaire de sa fondation*, p. 163-171, figures dans le texte).

On ne connaissait jusqu'ici de sarcosporidies que chez les Mammifères, dont ces parasites infestent en général les muscles striés; le Dr Henneguy a observé chez la crevette un sporozoaire dont l'habitat et les caractères se rapprochent beaucoup de ceux des sarcosporidies étudiées jusqu'ici.

Les crevettes infestées par le parasite perdent leur transparence et deviennent plus ou moins opaques. Des coupes pratiquées sur des animaux fixés et durcis convenablement montrent dans les fibres musculaires des masses allongées, constituées par des amas de vésicules renfermant en général 8 corpuscules réfringents qui sont probablement des spores. L'auteur n'a pu constater, autour des amas de vésicules, la membrane d'enveloppe qui caractérise les sarcosporidies des Mammifères. Les vésicules présentent un diamètre de $0^{mm},01$, les spores n'ont que 3 à 4 μ et sont légèrement pyriformes.

Le Dr Henneguy a essayé divers procédés de coloration pour l'étude de ces parasites; le meilleur, selon lui, serait la double coloration avec le liquide d'Erlich et l'éosine, les pièces étant fixées par l'alcool, les liquides de Flemming, de Perenyi ou de Kleinenberg. Par ce procédé, les masses parasitaires sont teintées en violet, les autres tissus en rose. On peut l'appliquer avec le même succès aux sarcosporidies des Mammifères.

F. D.

KÜNSTLER. — **Sur quelques Infusoires nouveaux ou peu connus** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, n° 24, 10 décembre 1888).

Dans cette note, M. Künstler signale un certain nombre d'Infusoires parasites. Dans la partie terminale du tube digestif de la Limule vit une forme voisine du *Lophomonas blattarum*. Dans l'intestin d'une larve de Tipulide vivent des Flagellés voisins des *Bodo*, mais à bouche terminale. Dans l'hydrophile se trouve un *Monocercomonas*. Le vagin de la vache et l'intestin du porc contiennent des espèces de *Trichomonas*. Enfin, l'on trouve dans l'intestin du *Periplaneta Americana* un petit Flagellé costulé rappelant le *Polymastix* du hanneton.

F. D.

Ruppert Vallentin. — **Psorospermium Lucernariæ** (*Zoologischer Anzeiger*, 5 novembre 1888, nº 292, p. 622-623).

L'auteur donne une courte description d'une Psorospermie qu'il a rencontrée dans les tissus de la *Lucernaria auricula.* Elle se présente sous forme de petites masses blanches sphériques, irrégulièrement distribuées sur le bord de la paroi interne de l'ombrelle, et mesurant de $\frac{1}{20}$ à $\frac{1}{80}$ de pouce en diamètre. Ces masses sont composées de spores à différents degrés de développement, les unes étant composées d'une masse sphérique de protoplasma, les autres plus grandes contenant un ou deux noyaux.

F. D.

A. Billet. — **Sur le cycle évolutif d'une nouvelle bactérie chromogène,** *Bacterium Balbianii* (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* août 1888).

La bactérie, étudiée par M. le Dr Billet, et qu'il dédie à M. le professeur Balbiani, vit dans l'eau de mer putréfiée. Son cycle évolutif comprend 4 stades : l'état filamenteux, l'état dissocié, l'état enchevêtré, et enfin l'état zoogléique. Dans cette dernière phase, elle affecte une forme cérébroïde constante. Sa couleur, d'un jaune pâle ou orangé, est d'abord très vive, mais disparaît après quelques cultures. L'auteur s'est servi, comme milieu de culture solide, d'agar-agar à 1,5 %, et, comme milieu liquide, d'une infusion bouillie de laminaires dans l'eau de mer. La température la plus favorable au développement de cette bactérie est celle de 20°-25° C.

F. D.

O. Bütschli. — **Devons-nous admettre un accroissement du plasma par intussusception ?** (*Biologischer Centralblatt,* Bd VIII, nº 6, mai 1888).

La nécessité d'admettre la nutrition par intussusception résulte de la conception même du protoplasma, que l'on se représente comme une substance homogène. D'après M. Bütschli, le plasma ne devrait point être considéré comme tel, mais présenterait au contraire la constitution d'une fine émulsion qu'il compare à l'émulsion formée par l'eau de savon et l'air. Dans le plasma, l'eau de savon serait représentée par la matière la plus dense (hyaloplasma), et l'air par la substance liquide (paraplasma).

Si l'on admet cette structure, l'intussusception n'est plus une nécessité; les principes nutritifs peuvent voyager dans le paraplasma en traversant les parois des bulles, et les nouvelles molécules de plasma peuvent se déposer par juxtaposition contre les parois de celles-ci. Les nouvelles bulles naissent par la formation de gouttelettes de paraplasma entre les bulles préexistantes.

F. D.

Eberth et Schimmelbusch. — **Le Bacille de la maladie contagieuse des Furets** (*Medicin Centralbl.*, n° 28. — *Der Thierarzt*, 27e année, n° 9).

L'hiver dernier, à Eisleben, on observait une épizootie sur les furets employés à la chasse du lapin. A l'autopsie, on trouvait une hypertrophie très accentuée de la rate et un processus pneumonique. Dans les organes internes, dans le sang, Eberth et Schimmelbusch découvrirent la présence d'un bacille analogue, par sa forme et son mode d'accroissement, au bacille de la septicémie des lapins et à celui de la maladie contagieuse du gibier (*Wildseuche*). Il différait cependant de ces 2 microbes pathogènes, et par sa motilité et par son peu d'action sur les poules. Ce bacille était entièrement virulent pour les moineaux, qui meurent 24 à 36 heures après l'inoculation intra-musculaire. Inoculé au pigeon, son action est moins rapide, et encore moindre chez les cobayes et les lapins, chez lesquels on n'observe qu'une inflammation locale. Les poules restent toujours réfractaires.

L. M.

Dr Csokor. — **Tuberculose du Chien** (*Oester. Zeitschr. für Veterinark*, vol. 2, liv. 1-2. — *Der Thierarzt*, XXVII ann., n° 9).

Les chiens possèdent un certain degré d'immunité pour la tuberculose, et cette affection est assez peu fréquente chez les animaux de l'espèce canine, pour qu'il soit nécessaire d'en enregistrer tous les cas réellement constatés.

Csokor, de Vienne, en cite 4 cas. Les 2 premiers se rapportent à une tuberculose abdominale, localisée sur le péritoine, le foie, la rate et les ganglions mésentériques. Tous ces organes étaient parsemés de petites nodosités, grisâtres ou jaunâtres, tantôt isolées, tantôt agglomérées.

Dans un de ces cas, il fut constaté que le propriétaire d'un de ces animaux était mort de la tuberculose quelque temps auparavant.

Sur 2 autres chiens, Csokor a observé une tuberculose abdominale jointe à une tuberculose pulmonaire. A l'autopsie d'un chien surtout, il trouvait des tubercules nombreux disséminés sur les organes de la cavité abdominale, dans les ganglions bronchiques et dans les deux poumons. Le propriétaire de cet animal était mort phtisique 14 jours auparavant et, jusqu'à sa mort, il avait conservé l'habitude de mettre son chien avec lui dans son lit.

Enfin, pour corroborer l'examen macroscopique qui, par la nature des lésions observées, ne laissait aucun doute sur l'existence de lésions tuberculeuses, Csokor fit l'examen microscopique du suc des ganglions. Ce suc, soumis à la méthode d'Ehrlich, lui permit de constater la présence d'une quantité prodigieuse de bacilles de la tuberculose.

L. M.

I. — Straus et Wurtz. — **Sur un procédé perfectionné d'analyse bactériologique de l'air** (*Ann. de l'Institut Pasteur*, t. II, page 171).

Après une critique rapide des méthodes employées pour le dosage des bactéries atmosphériques, MM. Straus et Wurtz exposent que le procédé employé par de Giacomi (*Archiv. Für expéri. patho. und pharmacologie*. Band XXI, page 318), qui consiste à faire barbotter l'air dans de la gélatine nutritive fondue, présente toutes les garanties désirables. L'appareil qu'ils ont adopté pour leurs expériences ne diffère pas sensiblement de ceux qui ont été imaginés pour le barbottement : une tubulure centrale, effilée, conduit l'air au fond d'un flacon contenant 10 à 12 c. m. cubes de gélatine fondue dans laquelle on le force à pénétrer en produisant une aspiration par l'intermédiaire d'une tubulure latérale. Afin d'éviter la formation de la mousse, qui se produit toutes les fois que l'air traverse rapidement un liquide visqueux ou chargé de matières albumineuses, MM. Straus et Wurtz additionnent la gélatine d'une goutte d'huile, suivant un artifice employé depuis longtemps dans l'industrie et les laboratoires.

Après le barbottement d'un volume d'air connu, la gélatine contaminée est répandue sous la forme de plaques cylindro-annulaires dans le flacon, d'après la méthode d'Esmarch, ou fait l'objet d'un fractionnement en 4 ou 5 plaques. Au bout de 4 à 5 jours on compte les colonies écloses, et l'on déduit de ce calcul la richesse de l'air analysé en bactéries et en mucédinées.

On doit à ces mêmes auteurs une étude comparée de leur procédé avec les méthodes d'analyses employées par Hesse, Frankland et

Pétri. Le procédé de Hesse (tube enduit de gélatine) serait le moins recommandable; il fournirait 5 fois moins de bactéries que le procédé du barbottage dans la gélatine nutritive. Les méthodes employées par Frankland (filtration à travers des bourres de coton, de verre) et Pétri (filtration à travers le sable) accuseraient 2 fois moins de germes que le procédé préconisé par eux. Malgré cette supériorité évidente de la méthode du barbottement sur les procédés de Hesse, de Frankland et de Pétri, nous ne pensons pas que le barbottement dans la gélatine soit le dernier terme de perfectionnement des méthodes applicables à l'analyse bactériologique de l'air; nous croyons que l'emploi des bourres solubles, inauguré par le MM. Fol et Gautier, présente une simplicité et des garanties de beaucoup supérieures à celles qui accompagnent les procédés actuellement en usage. D'ailleurs, l'ensemencement collectif des germes sur la gélatine offre des inconvénients nombreux dont on trouvera l'énumération dans une note que nous avons publiée dans les *Annales de l'Institut Pasteur,* t. II, page 354.

D^r^ M.

M. L. Perdrix. — **Sur les transformations des matières azotées dans les cultures de la bactéridie charbonneuse** (*Ann. de l'Institut Pasteur,* t. II, page 355).

M. Perdrix a cherché ce que devient l'azote des matières albuminoïdes dans les milieux où l'on cultive la bactéridie charbonneuse; dans ce but, il a institué trois groupes d'expériences qui ont porté sur le bouillon de veau, le sérum de sang et le lait de vache.

Comme résultat général, toujours observé, la densité des liquides altérés a été sans cesse trouvée plus faible que celle des mêmes liquides non altérés conservés comme témoins; le bouillon, épuisé par le *Bacillus anthracis*, accuse une diminution notable d'extrait sec, et perd une quantité appréciable de son azote total.

L'azote déficient est employé en partie par la bactéridie, pour servir à la constitution de nouvelles cellules, et en partie pour former de l'ammoniaque, résidu de la vie physiologique de ces mêmes cellules. Par la transformation à l'état de chloroplatinate, M. Perdrix s'est assuré, autant qu'on peut le faire, en opérant sur 100 centim. cubes de bouillon, que l'azote passe à l'état d'ammoniaque libre, dissous dans la liqueur, ou combiné à l'acide phosphorique; la quantité de cet azote ammoniacal peut varier suivant l'état de concentration du bouillon, du 1/3 au 1/4 de l'azote total. L'accumulation de l'ammoniaque libre au sein de la culture

liquide agit comme antiseptique, et contribue à ralentir et même à suspendre tout développement du bacille charbonneux; si, par une ébullition produite à la température ordinaire au moyen du vide, on enlève une partie du gaz ammoniac répandu dans la culture épuisée en apparence, cette dernière récupère la faculté de nourrir les filaments arrêtés dans leur croissance, et même de favoriser l'éclosion de nouvelles générations d'organismes.

Dans une seconde série d'expériences pratiquées avec du sérum de sang de bœuf, stérilisé à 56° par la méthode du *chauffage discontinu* (température qui ne détermine pas la solidification du sérum), M. Perdrix a constaté, au bout de quelques jours de culture, la coagulation du sérum, puis sa refluidification après une quarantaine de jours. L'azote de la matière albumineuse, disparue, a été retrouvée à l'état d'ammoniaque. Dans des expériences pratiquées sur le sang des animaux morts du charbon, M. Perdrix n'a cependant retrouvé que des traces insignifiantes de cet alcali, ce qui tient probablement à l'élimination rapide de l'ammoniaque lancé dans le torrent circulatoire, et plus vraisemblablement encore à sa prompte oxydation.

Les cultures de la bactéridie charbonneuse dans le lait, fournissent des quantités très élevés d'ammoniaque; il est, en effet, remarquable de constater que, sous leur action, l'azote résiduaire de la caséine reste à peine le double de l'azote ammoniacal produit; le sucre de lait est, en revanche, à peine touché par le bacille; quant à la matière grasse, elle se trouve partiellement transformée en savon ammoniacal.

En résumé, affirme M. Perdrix, à la fin de son intéressant Mémoire, la matière azotée des bouillons, celle du sérum, la caséine, sont transformées en ammoniaque par l'action de la bactéridie en présence de l'oxygène atmosphérique.

Nous ne saurions, à cet égard, partager entièrement les vues de M. Perdrix, la destruction brutale de la molécule albuminoïde (albumine d'œuf, fibrine, glutine, gélatine, etc.), par les alcalis agissant à haute température, notamment par l'hydrate de baryte employé par M. Schützenberger, comme la destruction lente des mêmes substances, par les phénomènes de la digestion et par les agents saprogènes, ne présente pas la simplicité qui se trouve indiquée dans les lignes qui précèdent. Il est hors doute, cela a été établi, depuis déjà fort longtemps, par un grand nombre d'auteurs, qu'un des termes ultimes les plus abondants de la décomposition des substances albuminoïdes est l'ammoniaque, comme l'alcool éthylique est le produit principal résultant de l'action des levûres sur le sucre; mais à côté de l'ammoniaque, on peut décou-

vrir des traces d'amines et la mise en liberté de substances protéiques diverses, de leucine, de tyrosine, etc..., qu'on comprendrait à tort dans l'azote résidual, et qui sont dus à l'action des organismes inférieurs sur la molécule complexe de l'albumine. Les expériences de M. Perdrix gagneraient donc beaucoup à être reprises sur une vaste échelle, je serais alors fort surpris si, parmi les alcalis volatils dégagés par les cultures de la bactéridie charbonneuse, on ne découvrait pas quelques ammoniaques composées, et, au sein des cultures, de l'urée, de la leucine et des substances protéiques d'une structure plus compliquée.

Une étude inverse, qui me semble fort intéressante à entreprendre, consisterait à suivre, au moyen de l'analyse chimique, la formation des substances azotées au dépens des sels ammoniacaux (tartrate d'ammoniaque, etc.) dissous dans des solutions uniquement minérales; il est effectivement curieux, dans ce cas, de voir plusieurs sortes de bactéries s'emparer de l'azote ammoniacal pour le transformer en azote albuminoïde.

D[r] M.

Les trois maladies contagieuses du Porc.

SCHUTZ et LOFFLER. — *Arbeiten a. d. Kaiser gesundheitsamte.*
SALMON. — *Report of the Commissionner of Agriculture for 1886.*
CORNIL et CHANTEMESSE. — *Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* 19 décembre 1887.
NOCARD. — *Recueil de Méd. Vét.*, 7[e] série, t. 5, p. 6, 1888.
D[r] SCHUTZ. — *Archiv f. Thierheilkunde,* vol. 14, liv. 4 et 5, 1888, p. 376.

Tous ceux qui s'occupent de microbiologie se souviennent certainement de ces discussions longues et passionnées auxquelles le rouget du porc a donné lieu dans ces dernières années. En effet, autrefois, on confondait sous ce nom plusieurs affections occasionnées par des microorganismes différents, et se traduisant par des effets à peu près identiques.

C'est ainsi que Thuillier, dont la science française déplore la perte prématurée, découvrait dans le rouget un microbe extrêmement fin, en forme de *8* de chiffre, mortel pour les pigeons, alors qu'un savant anglais, Klein, avec une opiniâtreté couronnée de succès, soutenait que cette affection était causée par un gros bacille, absolument inoffensif pour les pigeons. Dans ces conditions, il était absolument impossible de s'entendre. Mais depuis, la lumière s'est faite, et on a reconnu chez le porc trois maladies contagieuses, caractérisées par des microbes à caractères mor-

phologiques et biologiques différents, et se traduisant par des signes objectifs extérieurs à peu près identiques, notamment par l coloration rouge de la peau à l'approche de la mort.

Cette différenciation était d'autant plus nécessaire qu'il importait de bien reconnaître la nature du mal avant d'appliquer la vaccination préventive contre le rouget, préconisée par Pasteur. La confusion qui existait autrefois sur ces trois affections contagieuses explique les nombreux insuccès signalés au début de l'application de la méthode, la vaccination pastorienne ne pouvant donner des résultats favorables qu'en cas de rouget. Aussi avons-nous cru devoir résumer en quelques lignes les lésions macroscopiques et microscopiques de ces trois affections, ce qui, une fois pour toutes, nous évitera d'y revenir quand nous aurons l'occasion de parler de l'une et de l'autre.

1° Rouget.

Synonymie. — Typhus charbonneux du porc, — choléra des porcs, — peste des porcs, — Rothlaufseuche.

Lésions. — A peu près identiques à celles du charbon, de la septicémie. Rate volumineuse, gorgée de sang; reins hyperhémiés; inflammation du foie et des organes lymphoïdes, ganglions congestionnés; lard rosé; apparition sur la peau de taches plus ou moins nombreuses, confluentes, d'un rouge sombre.

Microbe. — Découvert par Thuillier. Extrêmement fin, en *8* de chiffre dans le sang non coloré, à peu près analogue à celui du choléra des poules; dans les préparations colorées, il apparaît sous forme d'un bâtonnet qui fixe surtout la matière colorante à ses deux extrémités.

Ce microbe immobile envahit le sang et surtout les organes lymphoïdes, la rate, les ganglions, la mœlle osseuse.

Il se cultive dans le bouillon de veau ou de poule, additionné de de 1 ou 2 °/₀ de peptone, et surtout dans la gélatine. Dans les tubes de gélatine, ce microbe surtout anaérobie forme de petites houppettes le long de la piqûre, analogues à une brosse à tuyaux de pipe.

Réceptivité. — Très peu sensible pour le porc, il est surtout virulent pour les lapins, les souris, le *pigeon*. On remarque même que, par son passage de pigeon à pigeon, il acquiert une virulence extrême.

Les poules, les oies, canards, *cobayes,* sont réfractaires.

Aussi se base-t-on sur ce caractère biologique pour assurer le diagnostic. Il suffit pour cela d'inoculer en même temps un lapin,

un pigeon, un cobaye; si le lapin et le pigeon meurent, alors que le cobaye résiste, on a affaire au rouget. Dans le cas contraire, si le cobaye meurt alors que le pigeon reste indemne, c'est qu'on a affaire à toute autre maladie.

2° Pneumo-entérite infectieuse.

Synonymie. — Swine fever ou infectious pneumo-entéritis des anglais, — choléra hog des américains, — diphtérite du porc (Suède et Danemark), — Schweinepest, — Schweinediphterie, — Typhoid fever.

Lésions. — Rate tuméfiée, lésions diphtéritiques très intenses sur l'intestin, petits foyers de pneumonie lobulaire, ganglions tuméfiés. Rougeur de la peau. En résumé, les lésions ont pour siège principal le canal intestinal, surtout le gros intestin.

Microbe. — Bactérie toujours mobile, très courte, épaisse, à extrémités s'imprégnant fortement de matière colorante, alors que le centre reste clair.

Ce microbe, étudié par Klein et Salmon, se trouve un peu partout, dans le sang, le foie, et surtout dans la rate.

A la fois aérobie et anaérobie, il se cultive avec une extrême facilité sur la gélatine, dont il occupe de préférence les couches superficielles.

Réceptivité. — Il ne tue pas le *pigeon,* à moins de doses considérables de virus, mais il est très virulent pour le *cobaye,* ce qui le différencie du microbe du rouget.

3° Pneumonie infectieuse.

Synonymie. — Schweinseuche (Loffler et Schütz). — Swine-plague (Salmon).

Lésions. — Localisées presque exclusivement sur les poumons. Pneumonie fibrineuse avec infiltration de sérosité dans les aréoles conjonctives intra-lobulaires; offrant des caractères à peu près identiques à ceux de la péripneumonie. Rien sur l'intestin.

Microbe. — Ce microbe a été étudié dernièrement en Allemagne, en 1885, par Schütz et Loffler, par Salmon en Amérique, et dernièrement, en France, aux environs de Paris, par Cornil et Chantemesse.

C'est une bactérie aérobie par excellence, immobile, presque oviforme, plus petite que celle de la pneumo-entérite infectieuse, qui se colore fortement à ses deux extrémités.

On la trouve rarement dans le sang, jamais dans la rate ; mais les poumons, le foie, en sont gorgés.

Réceptivité. — Tue le lapin, les souris, mais moins meurtrière pour le cochon d'Inde. Le *pigeon* est réfractaire.

L. M

Dr H. Bitter. — **Le développement des bactéries dans le corps vivant produit-il l'épuisement des matériaux nutritifs qu'il contient pour celles-ci ?** (*Zeitschrift für Hygiene*, t. IV, 2, p. 291).

Une des théories auxquelles on a eu recours, pour expliquer le phénomène si mystérieux de l'immunité acquise, est celui de l'épuisement du milieu nutritif. On sait que M. Pasteur, le premier, avait mis en évidence quelques faits semblant démontrer qu'un liquide nutritif, épuisé par le microbe qui y a vécu, devient un milieu de culture peu favorable pour ce même microbe. Séduits par l'analogie, quelques savants ont pensé qu'on pouvait expliquer l'immunité conférée par une première atteinte d'une maladie virulente par un mécanisme analogue, savoir par le fait que le microbe enlève à l'organisme dans lequel il a vécu certaines substances nécessaires à sa vie, et qu'il n'y trouve par conséquent plus, à l'avenir, un terrain de culture propice.

C'est cette théorie que M. le Dr Bitter a entrepris de soumettre à une épreuve expérimentale. Il commence d'abord par rappeler qu'il faut se garder d'étendre à l'organisme vivant les résultats obtenus dans les ballons de culture. On ne saurait donc, de ce que l'on voit les liquides nutritifs présenter un épuisement, conclure qu'il en est de même du corps vivant. En outre, plusieurs faits semblent contredire cette théorie de l'épuisement. D'abord, les phénomènes qui accompagnent la vaccination anticharbonneuse chez le mouton. Pour admettre, en effet, que les bactéries atténuées que l'on inocule privent l'organisme d'une matière nutritive nécessaire à la vie des bactéridies charbonneuses, il faudrait nécessairement que l'on constatât, dans le corps de l'animal vacciné, une pullulation de la bactéridie atténuée. Or, il n'en est rien. Les expériences faites par le Dr Bitter, sur ce point spécial, prouvent que les bactéridies atténuées ne se reproduisent que dans le voisinage immédiat du point d'inoculation. Jamais on ne les retrouve dans le sang ou dans les organes (voir plus loin le compte rendu de ce travail). Il est donc peu admissible que les quelques bacilles qui ont crû près du point d'inoculation aient pu enlever à l'organisme entier cette substance nutritive. Chez les

lapins vaccinés contre le charbon, d'après la méthode de MM. Roux et Chamberland (injection de grandes quantités du premier vaccin dans les veines), on ne remarque aucune augmentation dans le sang des bactéridies injectées; elles y meurent, au contraire, rapidement.

Le Dr Bitter a cherché d'ailleurs à prouver directement, par les expériences suivantes, qu'il ne se produit pas, chez l'animal malade, un épuisement du terrain nutritif. Pour cela, il inocula le charbon et le choléra des poules à des lapins, le rouget du porc à des pigeons, et préleva, à l'apogée de la maladie, quelques gouttes de sang des animaux inoculés; après en avoir préalablement déterminé la richesse en organismes, par l'observation microscopique, il fut maintenu en partie en chambre humide à 37°, tandis que l'autre partie était examinée au microscopé d'une façon continue sur la platine chauffante. Or, dans tous les cas, M. le Dr Bitter put constater une augmentation des micro-organismes dans le sang, ce qui exclut l'idée d'un épuisement de ses substances nutritives. Si donc, conclut ainsi M. le Dr Bitter, le sang, qui est pourtant dans ces septicémies aiguës le principal lieu d'élection des bactéries, ne subit pas de perte appréciable dans les substances nutritives qu'il contient, on ne peut guère admettre qu'il en soit autrement pour les muscles et autres parties de l'organisme.

M. Schottelius avait trouvé précédemment que le bacille du rouget ne se cultivait pas dans du bouillon fait avec de la viande de porcs morts du rouget, tandis qu'il prospérait dans du bouillon provenant de la viande de porcs sains. Cette observation pouvait être interprêtée en faveur de la théorie de l'épuisement, aussi a-t-elle engagé M. le Dr Bitter à reprendre cette expérience. Il prépara donc avec la chair de deux pigeons morts du rouget du porc, et dont les organes et le sang étaient farcis de bacilles, différents bouillons, les uns avec, les autres sans addition de peptone et de sel, ou de gélatine ; les mêmes terrains de culture furent encore préparés avec la chair de pigeons sains, et tous furent inoculés simultanément avec une culture pure de rouget. Or, il résulte du tableau résumant ces expériences que les bacilles du rouget se développèrent identiquement dans les deux espèces de milieux de culture. Il constata de même que le bacille du charbon se développe aussi abondamment dans le bouillon fait avec la chair d'animaux morts charbonneux que dans le bouillon normal.

M. le Dr Bitter répéta encore les précédentes expériences en se servant du sang et de bouillons d'animaux vaccinés préventivement, pour démontrer que, dans ce cas également, l'immunité ne

peut pas être imputée à un épuisement du milieu nutritif. Ainsi, en cultivant le bacille du charbon dans le sang de moutons et de lapins rendus réfractaires, il put de nouveau constater un abondant développement des bacilles. Il y a lieu cependant de rappeler ici, que la même expérience a déjà été faite par M. Metschnikoff (voir *Annales de l'Institut Pasteur*, t. I, p. 42). De même que M. Bitter, ce savant avait vu le sang, tant des animaux vaccinés que celui des non vaccinés, donner de belles cultures de la bactéridie charbonneuse. Par contre, il avait constaté, de plus, que le sang des moutons réfractaires atténuait considérablement la bactéridie dépourvue de spores. Les cultures conservant des spores, par contre, restaient virulentes. Ce fait, s'il se corrobore, serait très important, car il prouverait une différence d'action entre le sang normal et celui devenu réfractaire au charbon. La théorie de l'épuisement du milieu n'y trouverait toutefois, nous nous hâtons de le dire, pas d'appui direct, car cette différence pourrait être attribuée encore à d'autres causes, par exemple à la présence de substances solubles dans le sang.

Le sérum du sang des moutons refractaires se trouva être, dans les expériences de M. le Dr Bitter, un aussi bon milieu de culture pour le bacille charbonneux que le sérum de moutons non réfractaires. Il en fut de même des bouillons faits avec la chair de ces moutons. Il résulte donc, ainsi conclut M. le Dr Bitter, de ces expériences, que l'immunité à l'égard des trois septicémies aiguës connues sous le nom de charbon, rouget de porc et choléra des poules, n'est certainement pas produite par le fait que les sucs organiques auraient été dépouillés d'une matière nutritive quelconque.

Il n'est pas probable non plus qu'il en soit autrement pour les autres maladies infectieuses, surtout si l'on réfléchit que dans celles-ci le nombre des organismes pathogènes dans le corps est généralement beaucoup moins considérable que dans les septicémies aiguës qui ont fait l'objet de cette étude.

E. F.

Dr Hans Buchner. — **Sur une nouvelle méthode de culture des microbes anaérobies** (*Centralbl. für Bacteriologie u. Parasitenkunde*, t. IV, p. 151.)

Les travaux sur les microbes anaérobies sont relativement rares. surtout si l'on tient compte du nombre toujours croissant de mémoires publiés sur les organismes microscopiques, Cela tient aux difficultés que présente leur culture. En effet, soit que l'on pro-

duise le vide dans les ballons de culture par une pompe à mercure, soit que l'on chasse l'oxygène par un gaz inerte, il faut avoir recours à de nombreuses manipulations souvent délicates. Il faut en outre, généralement, sceller à la lampe les vases de cultures, ce qui complique les ensemencements, etc., etc. M. C. Fraenkel, il est vrai, a indiqué, il n'y a pas longtemps, un procédé qui facilite singulièrement ces opérations et qui lui a donné d'excellents résultats. Ce procédé est d'ailleurs déjà connu en France par l'excellente description qu'en a donné M. Duclaux dans les *Annales de l'Institut Pasteur* (t. II, p. 333). Nous allons le rappeler brièvement ici.

Le milieu de culture est mis dans un simple tube à essai, fermé par un bouchon de caoutchouc par lequel passent deux tubes coudés : un tube d'arrivée qui s'enfonce jusqu'au fond du tube, et un tube de sortie qui commence au-dessous du bouchon. Ces deux tubes sont au préalable munis dans leur partie extérieure d'un mince étranglement et fermés avec des tampons de ouate. Le tube à essai, le milieu nutritif, le bouchon et les tubes qui le traversent sont stérilisés — pour stériliser le bouchon, M. Fraenkel le laisse séjourner pendant une heure dans une solution de sublimé à 1/1000, puis pendant 3/4 d'heure dans la vapeur d'eau bouillante — et l'on fait passer un courant d'hydrogène, obtenu avec du zinc pur et de l'acide sulfurique pur, et lavé de façon à le débarrasser des produits sulfurés, arsenicaux et de la petite quantité d'oxygène qu'il pourrait encore contenir. Quand l'air est tout à fait chassé, ce qui a lieu en 2 minutes au plus avec le bouillon qui permet l'emploi d'un courant énergique, et en 3 à 4 minutes avec de la gélatine maintenue à 37°, on ferme à la lampe, en leurs parties étranglées, d'abord le tube de sortie, puis le tube d'entrée, et on étend ensuite le liquide gélatinisé sur les parois du tube (plaque d'Esmarch). Pour éviter sûrement toute fuite du gaz, on couvre le bouchon d'une couche de paraffine. Ce procédé, on le voit, est aisé à appliquer ; il permet l'emploi d'appareils peu coûteux et facilite les prises de liquide dans le vase de culture ; on peut même, la prise de liquide effectuée, le reboucher, faire passer un nouveau courant d'hydrogène et le conserver. Cependant, ce procédé nécessite toujours l'emploi d'un gaz inerte dont la production et le passage exigent quelque temps.

Tout autre est la méthode préconisée par M. Buchner, et reposant sur l'absorption de l'oxygène par un pyrogallate alcalin. Voici comment on procède : le microbe anaérobie que l'on veut cultiver est ensemencé dans un tube à essai, contenant du bouillon, de la gélatine ou n'importe quel autre milieu nutritif. On peut également liquéfier la gélatine ou la gélose,

et l'étendre sur les parois du tube. Le tube à essai, bouché à la ouate (il est bon d'en relacher le tampon pour faciliter l'absorption de l'oxygène) est placé sur un petit support en fil de fer dans un tube à essai plus grand, haut de 22 à 24^{cm}, et large de 3^{cm}, contenant dans sa partie inférieure 1 gr. d'acide pyrogallique sec, auquel on ajoute, au moyen d'une pipette, 10^{ccm} d'une solution de potasse caustique à 1/10 (1 partie de liqueur de potasse caustique et 10 parties d'eau) et que l'on ferme avec un bouchon de caoutchouc neuf. A 37°, tout l'oxygène d'un tube d'une contenance de 100^{ccm} est absorbé en 24 heures; à 20°, il faut environ 2 jours. Pour s'assurer de l'absorption de l'oxygène, M. Buchner a introduit dans le tube de culture, au lieu de bouillon, de minces boules de verre remplies d'une solution de pyrogallate alcalin, qu'il brisait après un séjour de 24 heures à l'étuve en imprimant quelques secousses au tube. La solution limpide, dénotant ainsi l'absence d'oxygène que prouve, du reste, le fait que les anaérobies les plus sensibles à l'action de l'air se cultivent parfaitement d'après cette méthode. Après l'absorption de l'oxygène par l'acide pyrogallique, il reste une atmosphère composée d'azote et d'un peu d'acide carbonique, auxquels s'ajoute une très faible fraction d'oxyde de carbone, ainsi que l'ont démontré MM. Calvert et Cloëz et M. Boussingault. D'après ce dernier, la quantité d'oxyde de carbone représente 0,4 à 3,4 °/₀ du volume de l'oxygène absorbé, et est d'autant plus forte que l'oxygène est plus pur, et diminue quand l'oxygène est mélangé à un gaz inerte. Dans le cas qui nous occupe, elle est donc minime. On pourrait toutefois se demander s'il n'y a pas là un danger pour les cultures. M. Buchner ne le croit pas, car il n'a remarqué aucune influence fâcheuse sur ses cultures, et il a, au contraire, pu cultiver parfaitement les anaérobies les plus marqués, tels que le vibrion septique.

Un procédé analogue à celui de M. Buchner a été décrit par M. Roux dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, t. I, p. 50. Ce savant utilisait, on se le rappelle, la propriété que certains microbes, le *Bacillus subtilis,* par exemple, possèdent à un haut degré d'absorber l'oxygène de l'air. Pour cela, on liquéfie par la chaleur la gélatine ou la gélose contenue dans un tube à essai ordinaire, on la porte à l'ébullition pour chasser tout l'air, puis on la solidifie rapidement en plongeant le tube dans de l'eau froide. On pratique une piqûre au moyen d'un fil de platine comme à l'ordinaire, et on fait tomber sur la surface de la gélatine un peu de gélose liquéfiée. Quand le bouchon de gélose est solide, on introduit dans le tube une culture pure de *Bacillus subtilis* dans du bouillon et on ferme l'extrémité à la lampe. Le *Bacillus subtilis*

prend tout l'oxygène contenu dans le tube, et au-dessous l'organisme anaérobie pousse parfaitement à l'abri, séparé de la culture liquide par le bouchon de gélose qui ne se liquéfie pas. Mais, comme on le voit, le procédé de M. Buchner a l'avantage d'une plus grande simplicité, et surtout de faciliter les prises de liquide. Il n'y aurait, croyons-nous, qu'un reproche à adresser ce dernier. Pendant les 24 heures nécessaires à l'absorption de l'oxygène, les espèces aérobies ensemencées en même temps, (le cas se présentera par exemple quand on cherchera à isoler dans un mélange d'espèces différentes les microbes anaérobies), pourraient avoir le temps de se développer et d'étouffer les anaérobies, ou bien de liquéfier la gélatine étendue en plaque sur les parois du tube. Ceci, par contre, ne sera pas à craindre quand on ensemencera le microbe anaérobie à l'état de pureté; aussi, le procédé de M. Buchner nous paraît-il constituer un précieux perfectionnement apporté à l'étude des êtres anaérobies.

E. F.

Dr Tavel. — **Du Diagnostic de la Tuberculose chirurgicale par l'inoculation des Cobayes** (*Correspondenzblatt für Schweiz.* Aerzte. XVIII, n° 10, 1888).

Dans tous les cas de tuberculose chirurgicale ou d'affections pouvant être confondues avec la tuberculose, le Dr Tavel inocule systématiquement les produits pathologiques (pus, urine, tissus, granulations, esquilles, etc.) à des cobayes. Une série de 120 cas, ainsi traités à la clinique chirurgicale de Berne, permet à l'auteur d'en résumer ainsi les résultats:

1° Dans tous les cas où la maladie était de nature tuberculeuse, l'inoculation a produit une tuberculose chez l'animal;

2° Cette méthode demande moins de temps et donne des résultats plus sûrs que l'examen anatomo-pathologique, quand il s'agit de décider si une maladie est de nature tuberculeuse;

3° Cette méthode peut enfin conduire à des résultats certains, quand l'examen anatomique est impossible (pus, esquilles, sang, épanchements séreux).

L'auteur a réussi, par cette méthode, à établir le diagnostic de la tuberculose dans des cas où tous les signes cliniques et pathologiques semblaient exclure une affection tuberculeuse: ces résultats si encourageants sont une nouvelle preuve de l'importance des méthodes bactériologiques.

E. F.

BIBLIOGRAPHIE

Dr Rudolf v. Jaksch. — **Manuel de diagnostic des maladies internes par les méthodes bactériologiques, chimiques et microscopiques,** traduit de l'allemand par M. L. Moulé, médecin-vétérinaire. Un vol. gr. in-8°, xx-354 pages, orné de 108 figures en noir et en couleur. — G. Carré, lib.-éditeur, Paris, 1888.

Nous devons à M. L. Moulé, préparateur au laboratoire de bactériologie de l'inspection de la boucherie de Paris, la traduction du manuel si justement estimé du Dr Rudolf v. Jaksch, professeur à l'Université de Graz. Cet ouvrage, luxueusement édité par la maison G. Carré, est certainement le plus complet qui ait été publié sur le diagnostic par les méthodes bactériologiques, chimiques et microscopiques des maladies relevant de la pathologie interne, et nous pouvons également ajouter le plus savant. M. Moulé a su rendre dans notre langue, ce qui n'est pas un des seuls éloges qu'on doive lui adresser, le style serré, précis, constamment clair de M. le professeur Jaksch qui possède au plus haut degré le talent de résumer, en quelques pages nourries de faits, l'historique et nos connaissances actuelles sur les sujets qu'il aborde.

Le praticien et l'étudiant apprendront beaucoup à la lecture de l'exposé succint des questions si diverses traitées dans l'ouvrage du Dr Jaksch; ils y trouveront de même, de nombreux et de précieux renseignements bibliographiques auxquels ils pourront recourir, si leur désir est d'approfondir plus spécialement un sujet, en consultant les sources originales.

La division de ce volume se rapproche beaucoup de celle du *Manuel de Microscopie clinique,* de MM. Bizzozero et Firket, analysé dans un numéro précédent. Il ne pouvait, d'ailleurs, en être autrement, puisque le clinicien ne peut varier à l'infini la nature de ses observations sur les liquides et les sécrétions que l'économie animale lui présente toujours en petit nombre et souvent en très faible quantité.

Le sang, les produits de la cavité buccale, les crachats, se présentent naturellement comme les premières substances à étudier. Le suc gastrique, les matières vomies et les fèces viennent ensuite. M. R. v. Jaksch consacre de nombreux développements à l'analyse des urines, des exudats, des transsudats, des liquides kystiques, enfin les liquides des organes sexuels sont examinés avec soin et beaucoup de méthode.

La dernière partie du livre du savant professeur de l'Université de Graz est consacrée à l'étude des méthodes bactériologiques ; on regrettera peut-être de la trouver un peu brève, mais de plus longs développements auraient nui à l'harmonie générale de l'ouvrage qui est avant tout, je le répète, un résumé savant et succinct des méthodes d'investigations cliniques de la médecine humaine et vétérinaire.

Nous souhaitons à la traduction si consciencieuse et si soignée de M. Moulé le plus grand succès, et nous ne laisserons pas passer l'occasion de la recommander à tous ceux qui peuvent être aux prises avec les diagnostics difficiles et délicats.

D^r M.

E. Salazar et C. Newman. — **Notas sobre el espirilo del Colera asiatico**, broch. de 36 pages, avec 7 photomicrographies, Valparaiso, 1888.

Nos confrères du laboratoire *de la Escuela naval* publient, dans un opuscule court et substantiel, une série de recherches très précises qui confirment la découverte du *Spirillum choleræ asiaticæ* du professeur Koch ; de même que ce savant, ils ont pu isoler des déjections des cholériques le bacille virgule, auteur présumé de la maladie. Ce bacille a fait de leur part l'objet de nombreuses cultures et de 7 belles photomicrographies reproduisant cet organisme trouvé dans les mucosités de l'iléon ou cultivé sur la gélatine nutritive.

Ce travail doit être considéré comme une bonne contribution à l'étude du spirille de Koch, dont la spécificité, niée par le professeur Klein, n'est acceptée qu'avec une extrême réserve par beaucoup d'autres savants.

D^r M.

L'Éditeur-Gérant :
Georges CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SACCHAROMYCES FERMENTANT EN CONCURRENCE

PAR

J. VUYLSTEKE

Introduction.

M. Hansen a observé que, dans les couches supérieures d'un moût de bière, mis en levain avec un mélange de levûres de culture basses et de Saccharomyces sauvages, la proportion des cellules de ces derniers était toujours plus forte à la fin de la fermentation qu'au commencement de celle-ci. Il avait fait cette constatation dans les cuves de fermentation des brasseries de Carlsberg à l'époque où celles-ci n'avaient pas encore pris la culture pure pour base de leur fabrication, par conséquent en étudiant des mélanges plus ou moins inconnus. Avec l'exactitude minutieuse qui le distingue, il ne se contenta pas de ces observations pour considérer ce fait comme un point acquis, mais il institua pour le vérifier un grand nombre de séries d'expériences méthodiques, où il opérait avec des éléments connus. Dans de petites cuves dans la cave de fermentation, et dans des vases cylindriques en verre dans le laboratoire, M. Hansen fit fermenter du moût, mis en levain avec des mélanges formés, d'une part des levûres basses de culture Carlsberg I et Carlsberg II, d'autre part

des ferments de maladie, *Sacch. Pastorianus I*, *Sacch. Pastorianus III* et *Sacch. ellipsoïdeus II.* Il compara les couches supérieures, aux moments où la fermentation principale commençait à se manifester par une légère formation d'écume et où celle-ci était sur le point d'être terminée, c'est-à-dire au commencement et à la fin, comme j'appelle ces instants dans mon exposé. Le célèbre physiologue de Carlsberg trouva toujours une infection plus forte à la fin de la fermentation principale qu'au commencement de celle-ci : il prouva ainsi que les mélanges où la levûre de culture était basse suivaient souvent la règle énoncée, et enfin, comme on n'avait jamais rencontré d'exception, il fit entrevoir que l'on était jusqu'à un certain point en droit de supposer la règle générale pour les mélanges avec les levûres de culture basses et les levûres sauvages.

Au point de vue pratique, la mise en évidence de ces phénomènes devait être et a été en effet de la plus haute importance. Elle enseigne qu'il faut prendre le moût des couches supérieures d'une cuve où la fermentation commence à se manifester pour point de départ d'une culture pure, quand celle-ci a pour but d'isoler le Saccharomyces de culture. On se servira, au contraire, du moût des couches supérieures d'une cuve où la fermentation principale touche à sa fin, lorsqu'il s'agit d'une analyse, c'est-à-dire de la découverte d'un ferment sauvage.

M. Hansen avait donné cette règle depuis longtemps dans les leçons qu'il professe devant les élèves admis au laboratoire de Carlsberg; de là, elle avait pénétré dans la littérature, mais elle fut publiée par le savant danois lui-même pour la première fois dans le cinquième fascicule du second volume des *Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet*, f. 273.

Les expériences et les observations de M. Hansen avaient porté exclusivement sur des mélanges où la levûre de culture était basse. On ne savait pas si la même loi présidait aux fermentations hautes. C'était une question qui demandait à être fixée. Envisagée au point de vue pratique, elle offre une grande utilité pour le procédé technique de la préparation d'une culture pure et de l'analyse, en indi-

quant le moyen le plus rapide d'atteindre le résultat visé. Sous le rapport théorique, elle présente également de l'intérêt, car elle contribue à l'étude des fonctions biologiques des Saccharomyces; elle fixe notamment le point de savoir s'il n'y a pas de différences à cet égard entre les levûres de culture hautes et basses.

Ces considérations m'ont amené à faire des expériences. Comme cela se passe toujours, le problème, qui paraissait simple au premier abord, s'est montré dans la suite beaucoup plus complexe; une foule de points demandent à être élucidés avant d'arriver à une solution complète. Toutefois, forcé d'interrompre mes travaux par suite d'un long voyage, je publie aujourd'hui une partie des résultats obtenus, me proposant de reprendre plus tard ces recherches, d'expérimenter dans les conditions de la pratique même, d'étudier alors un plus grand nombre d'espèces, et en même temps de résoudre une série de questions accessoires qui ont surgi successivement.

Ces recherches ont été faites pendant le temps où j'ai eu l'heureuse chance de travailler au laboratoire de Carlsberg, sous la bienveillante direction de M. Hansen. Qu'il me soit permis ici d'adresser mes remercîments les plus vifs et les plus respectueux à mon vénéré maître.

Méthodes.

Dans mes expériences, je me suis servi de grands vases cylindriques en verre, d'une capacité de 2 litres environ. Je les remplissais jusqu'aux deux-tiers de moût houblonné, d'une densité de 14 % Balling, servant à la fabrication de la bière de garde.

Afin d'éviter autant que possible toute infection extérieure, les vases étaient fermés par une double feuille de papier à filtrer maintenue à l'aide d'une ficelle. Dans la plupart des essais, afin de tuer au moins une certaine partie des germes qui pouvaient être contenus dans le moût, les vases remplis et fermés étaient mis au thermostat, puis portés lentement dans l'espace de 2 à 3 heures

à 70°-90° c., pour rester exposés à cette température pendant un temps variant de 2 à 5 heures. De cette façon, toutes les cellules *de levûre* étaient tuées. Dans d'autres cas plus rares, les vases ont été simplement lavés à l'alcool avant de recevoir le moût, qui alors avait, pendant son refroidissement, été soustrait à l'infection extérieure et était resté presque complétement stérile.

Les levûres qui ont été employées dans les expériences étaient, d'une part, le Carlsberg I, le *Sacch. cerevisiæ I* et une levûre de Burton (la première est une levûre basse, les deux autres, au contraire, sont des levûres hautes), — d'autre part, le *Sacch. Pastorianus I,* le *Sacch. Pastorianus II,* le *Sacch. Pastorianus III,* le *Sacch. ellipsoideus II.* Ces levûres étaient toujours maintenues jeunes et vigoureuses : tous les huit jours au moins, elles étaient ensemencées dans du nouveau moût. La veille, ou l'avant-veille du jour où je voulais mettre en levain une série qui se composait ordinairement de quatre essais, j'ensemençais la levûre dans un petit ballon Pasteur de 1/8 de litre et la levûre de culture dans un ballon analogue, mais généralement de dimensions plus grandes. Le plus souvent, je laissais ces cultures se développer au thermostat à 26-27° pendant un ou deux jours : j'obtenais ainsi des levûres absolument pures, jeunes et vigoureuses. Le jour de l'ensemencement, je comptais à l'hématimètre la teneur en cellules de l'unité dans chaque ballon ; je proportionnais, en conséquence, les volumes, que je pipettais pour ensemencer la série, de façon à avoir dans les quatre vases des teneurs en levûres sauvages se rapprochant de 1, 2, 4, 8 % du nombre total des cellules. Après une répartition uniforme des Saccharomyces dans le moût, par une agitation convenable, je soutirais immédiatement à l'aide de pipettes stérilisées une portion de liquide qui me permettait l'évaluation directe du nombre de cellules sauvages qui se trouvaient dans la levûre-mère de chaque essai. Les vases étaient mis à l'abri de toute agitation dans une armoire exposée à la lumière indirecte, et y restaient soumis à la température ordinaire des appartements, 14-20° cen. Le lendemain, la fermentation était en train, une légère couche d'écume couvrait le liquide; celle-ci, quand la levûre était haute,

présentait une forme caractéristique, surhaussée au milieu sous forme de bosse. C'est cette période qui est désignée sous la dénomination de commencement de la fermentation. A ce moment, en prenant soin, autant que possible, d'éviter toute agitation, je pipettais à la partie supérieure, toujours avec des pipettes stérilisées, une prise d'essai, que je tâchais d'avoir aussi moyenne que possible, en la prenant suffisamment grande et à diverses places de la surface.

La fermentation était ensuite abandonnée à elle-même; elle poursuivait tranquillement son cours, et quand elle touchait à la fin, c'est-à-dire 7, 8 ou 9 jours après la mise en levain, je pipettais une prise d'essai faite dans des conditions identiques à celles du second jour. Quand la levûre de culture était une levûre haute, la levûre supérieure était recueillie à part; dans les deux cas, le liquide était syphonné afin de mettre à découvert la levûre du dépôt et d'en permettre l'étude.

J'avais ainsi les éléments nécessaires pour la comparaison entre les teneurs relatives lors de l'ensemencement, lors du commencement, lors de la fin de la fermentation principale.

Afin de déterminer cette teneur, je me suis servi, d'après le genre de levûres, des deux méthodes suivantes.

1° *Méthode basée sur une numération directe.*

Les recherches de M. Hansen ont montré que, dans les conditions ordinaires auxquelles une levûre est soumise pendant la fermentation principale dans le moût, le *Sacch. cerevisiæ I* conserve la forme caractéristique qu'il présente dans la levûre du dépôt obtenue d'après le mode de culture ordinaire (Voir les *Med. fra Carlsb. Laborat.* IIe vol., IV fasc.). Cette espèce se comporte donc à cet égard tout autrement que le Carlsberg I, dont certaines cellules prennent la forme allongée sous les mêmes influences extérieures. D'un autre côté, le *Sacch. Pastorianus I*, et surtout le *Sacch. Pastorianus III*, ne manifestent pas, dans ces circonstances, une tendance spéciale à s'ovaliser, mais conservent au contraire leur forme primitive qui, préci-

sément, leur a valu leur nom. De ces deux faits il résulte que, si on ensemence ensemble dans du moût le *Sacch. cerevisiæ I* et le *Sacch. Pastorianus I*, ou le *Sacch. Pastorianus III*, si ensuite on examine une goutte du liquide en fermentation à n'importe quel instant de celle-ci, on pourra, avec la plus grande probabilité, pour ne pas dire avec certitude, considérer comme levûres sauvages toutes les formes pastorianées. La faute que l'on pourra commettre ainsi sera tout au plus très faible et sera sans influence sur les résultats définitifs. Si maintenant on compare les différents moments de la fermentation, la comparaison de la teneur relative en formes allongées donnera une idée de la marche de l'infection,

Toutes mes numérations ont été faites à l'hématimètre, en me guidant sur les indications que M. Hansen donne à ce sujet dans le 1er volume des *Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet*, f. 267. Le volume pipetté, soigneusement annoté, était additionné d'une quantité connue d'acide sulfurique à 10 °/₀, de façon à abaisser le nombre de cellules compris dans chaque champ du microscope, au point de rendre la numération facile : dans les environs de 300 cellules par champ, par exemple, pour l'objectif *DD* et l'oculaire 3 de Zeiss, avec le tube court et avec un hématimètre présentant une cavité de 1/5 de millimètre de profondeur. Après avoir eu soin de répartir uniformément les cellules dans la masse du liquide, par une agitation convenable, j'en portais une goutte sur l'hématimètre de Hayem et Nachet, recouvert d'un verre mince. Je comptais 4 champs dans le cas où le nombre des cellules dépassait 300 par champ, 6 au contraire pour une quantité moindre. J'examinais ainsi 3 préparations différentes, de sorte que mes chiffres proviennent de 12 à 18 champs. Par la division du nombre des cellules ovales, par celui des cellules allongées, j'obtenais un facteur qui exprimait ce que j'appelle le *degré de pureté* ou encore le rapport des cellules de culture aux cellules sauvages.

2° *Méthode basée sur les ascospores.*

La numération directe, qui est possible avec le *Sacch.*

cerevisiœ I, le *Sacch. Pastorianus I* et le *Sacch. Pastorianus III,* ne donne plus de résultats quand la levûre de culture devient le Burton ou le Carlsberg I, qui, pendant la fermentation principale, manifestent une tendance à prendre la forme allongée. Pour me rendre compte du degré de pureté dans ces cas, je me suis basé sur la formation des ascospores, suivant en cela l'exemple de M. Hansen, qui, du moins en partie, avait appuyé sur le même procédé les recherches que j'ai citées au commencement de cet exposé. Le Carlsberg I ne produit pas d'ascospores avant 5 jours, à la température de 25° c.; les levûres sauvages, *Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoïdeus II,* au contraire, en produisent déjà au bout de 25-28 heures, de sorte que si l'on met au thermostat à 25°, sur des blocs de plâtre, dans les conditions voulues, un mélange de levûres sauvages et de Carlsberg I et que, après une exposition à cette température pendant 4 jours, on en examine une préparation au microscope, on a l'assurance que toutes les cellules qui ont formé des ascospores appartiennent aux levûres sauvages. En examinant un nombre suffisant de préparations, et en y comptant les cellules, on arrivera très bien à connaître le rapport moyen des cellules qui n'ont pas produit d'ascospores à celles qui ont donné lieu à ce genre de fructification. Il est à remarquer que le *Sacch. Pastorianus III* ne se prête guère à cette méthode, car il ne produit pas d'ascospores avec une facilité suffisante.

Le Burton produit beaucoup plus rapidement ses ascospores que le Carlsberg I : au bout de 3 jours, il en a déjà formé une quantité notable; mais, dans ce cas, il est encore facile de déterminer quelles cellules à ascospores appartiennent aux levûres sauvages : les ascospores de celles-ci sont en effet remplies d'un plasma dense et réfringent, tandis que celles du Burton paraissent vides. On pourra avec cette espèce, en tenant compte de cette observation, procéder à une analyse après 3 jours d'exposition des blocs de plâtre à la température de 25°.

Comme dans ces recherches il arrive que l'on a à examiner un grand nombre de cultures à la fois, on peut, sans nuire à l'exactitude des résultats, mettre celles qui

ne peuvent être soumises immédiatement à un examen microscopique dans une cage à glace où une température de 2°-5° c. arrête le développement. Cette façon d'agir n'est cependant pas à conseiller avec le Burton, car dans ces circonstances certaines ascospores de levûres sauvages peuvent parfois prendre l'aspect vide de celles des levûres de culture.

Les chiffres que nous obtenons ainsi nous disent seulement le rapport des cellules qui ne produisent pas d'ascospores à celles qui en produisent. Il n'y a pas lieu d'espérer d'obtenir des résultats exacts, mais simplement des indications sur la direction des variations des teneurs. En effet, les cellules prises aux diverses phases de la fermentation ne produisent pas leurs ascospores avec la même facilité. Les recherches de M. Hansen ont parfaitement démontré la grande différence qu'il y avait à ce point de vue, pour une même espèce, quand on la cultivait à 25°-27° pendant 24 heures ou pendant 48 heures. Il en résulte que tout spécialement les cellules prises à la fin de la fermentation donneront moins d'ascospores que celles prises au commencement. Heureusement l'erreur commise avec le Carlsberg I, en conséquence de cette aptitude moindre, va précisément à l'encontre des indications : comme on trouve relativement plus de cellules à ascospores à la fin de la fermentation qu'au commencement, on doit conclure *à fortiori* à une diminution du degré de pureté, c'est-à-dire à une infection.

Il y a plusieurs moyens d'appliquer la méthode basée sur la formation des ascospores.

Le premier moyen qui se présente à l'idée est de porter sur un bloc de plâtre, à l'aide d'une baguette de verre flambée, quelques gouttes du moût en fermentation. Malheureusement, comme il arrive souvent que le nombre de cellules en suspension est faible, ce procédé présente l'inconvénient de donner difficilement un chiffre moyen. Le nombre des cellules que l'on peut examiner est rendu encore beaucoup plus petit par leur absorption dans les pores mêmes du bloc.

On arrive à en avoir un nombre suffisant par une filtration. Sur un petit filtre en papier préalablement stérilisé et

mis dans un entonnoir également stérilisé, on verse petit à petit quelques centimètres cubes du liquide contenant les cellules. Chaque fois, avant de vérser, on a soin d'agiter toute la masse, afin d'obtenir sur le filtre une prise moyenne. Le liquide passe facilement clair au commencement de la fermentation, mais à la fin de celle-ci il faut souvent refiltrer et prendre des précautions spéciales. Ce filtre est ensuite déplié et porté sur un bloc de plâtre que l'on traite de la façon habituelle. Je ferai remarquer que, dans tous les cas où j'avais suffisamment de cellules en suspension dans le liquide pour permettre un ensemencement direct sur blocs, j'ai toujours obtenu sur ceux-ci un nombre plus considérable de cellules à ascospores que sur le papier à filtrer. Je signale cette observation en passant, sans y insister, car je n'ai eu l'occasion ni d'en vérifier la généralité, ni d'en rechercher les causes.

Dans les deux procédés précédents, la cause d'erreur était due à la différence d'aptitude des cellules à former des ascospores aux différentes phases de la fermentation; dans le troisième mode que je vais décrire, dans tous les cas les cellules sont jeunes et vigoureuses, mais, afin de les rendre telles, il a fallu les rafraîchir par une culture, et c'est là que gît le point faible du procédé. Rien ne nous dit que deux cellules d'une même espèce, prises au commencement et à la fin de la fermentation, se multiplieront de la même façon dans une culture nouvelle : c'est pourtant cette hypothèse que nous faisons ici. A elle seule, cette méthode ne donne pas de résultats certains, mais, combinée avec les autres, elle acquiert plus de valeur.

Ce troisième mode consiste à ensemencer dans du moût une faible quantité (deux centimètres cubes par exemple) du liquide tenant les cellules en suspension, en ayant soin de l'agiter auparavant, de façon à ce que ce volume représente une moyenne. J'ai fait généralement ces ensemencements dans du moût houblonné ordinaire, stérilisé au préalable et contenu dans des flacons Erlenmeyer, fermés par un tampon de ouate recouvert de papier à filtrer. Je les laissais se développer à 26-27° c. pendant 24 heures; la levûre du dépôt servait à ensemencer des blocs de plâtre, ou bien parfois la levûre était répartie

uniformément dans le liquide, et celui-ci servait tantôt à une filtration, tantôt à un ensemencement direct sur blocs de plâtre. Ce dernier procédé est le plus rationnel, puisqu'il évite la dénaturation du résultat par suite de la différence d'aptitude que possèdent les levûres à se déposer.

Cette différence d'aptitude à se déposer est, avec la différence de vigueur des cellules, la raison principale qui fait que l'on n'obtient pas une analyse exacte du degré de pureté à l'aide de la méthode suivante : On pipette une prise d'essai dans des verres hauts de 15^{cm} environ et d'un diamètre de 2 à 3^{cm}. On laisse pendant 24 heures se former au fond du verre un dépôt qui sert à faire des cultures sur plâtre, après décantation du liquide surnageant. Comme je l'ai dit, cette méthode n'est pas à conseiller; en effet, elle présuppose que le nombre de cellules de chaque espèce qui se dépose pendant les 24 heures qui suivent le transvasement, est proportionnel à la quantité des cellules qui se trouvent dans le liquide au moment du transvasement, Or, deux facteurs agissent pour déranger cette proportionnalité : d'un côté, une espèce se multiplie plus que l'autre pendant les 24 heures, d'un autre côté, une espèce se dépose plus facilement que l'autre.

Résultat des Expériences.

Carlsberg I (levûre basse), *Sacch. Pastorianus I* et *Sacch. ellipsoïdeus II.* — Afin de me familiariser avec les méthodes, j'expérimentai avec quelques-unes des levûres dont M. Hansen s'était servi pour démontrer la règle qui préside aux phénomènes de concurrence des levûres de culture basses et des levûres sauvages. J'instituai notamment des séries d'expériences avec la levûre basse Carlsberg I et les deux levûres sauvages *Sacch. Pastorianus I* et *Sacch. ellipsoïdeus II;* ces deux espèces sauvages conviennent très bien pour ces recherches, par suite de leur grande aptitude à former des ascospores. Toujours j'ai eu l'occasion de vérifier la règle énoncée par M. Hansen et de constater que, *dans les couches supérieures d'un moût mis en levain, avec un mélange de levûres de cultures basses et*

de Saccharomyces sauvages, la proportion des cellules de ces dernières est toujours plus forte à la fin de la fermentation principale qu'au commencement de celle-ci.

Sacch. cerevisiæ I (levûre haute) et *Sacch. Pastorianus I.* — Une série qui avait été ensemencée avec un nombre absolu, très faible de cellules, a permis la comparaison des rapports qui existent entre les cellules de culture et les cellules sauvages, dans les couches supérieures, 48 heures et 144 heures après l'ensemencement. Sur les 4 essais, 3 ont donné une teneur relative en *Sacch. Pastorianus I* plus forte à la fin qu'au commencement et un seul le résultat inverse.

Six essais avec un ensemencement moyen, où les comparaisons ont été faites 24 heures et 168 heures après la mise en levain, ont fait voir une augmentation d'infection dans deux vases et une purification proportionnelle dans les quatre autres.

Dans une série qui avait été ensemencée avec un nombre considérable de cellules, j'ai comparé les teneurs au bout de 24 heures et de 144 heures, et j'ai trouvé partout une infection plus grande à la fin qu'au commencement.

En résumé, avec un moût tranquille, 9 essais donnent des résultats analogues à ceux que l'on observe avec des levûres basses, mais 5 s'en écartent.

Dans 2 essais, le moût a été fortement agité après 24 heures de fermentation, de façon à répartir uniformément les cellules dans toute la masse et à permettre de déterminer, par une numération, leur multiplication totale. La partie supérieure du liquide pipetée immédiatement avant l'agitation, comparée avec la partie supérieure prise 168 heures après le commencement de l'expérience, montre pour la fin une purification dans un essai et une infection dans un autre.

Ces recherches permettent de formuler la conclusion suivante : Si on compare les rapports des cellules du *Sacch. cerevisiæ I* à celles du *Sacch. Pastorianus I*, qui se trouvent au commencement et à la fin de la fermentation principale, c'est-à-dire 24-48 et 144-168 heures après la mise en levain, dans les couches supérieures d'un moût

fermentant avec ce mélange dans des vases d'une capacité de deux litres environ, à la température ordinaire des appartements, on ne trouve pas toujours une infection plus forte à la fin qu'au commencement.

En conséquence, le *Sacch. cerevisiœ I*, en concurrence avec le *Sacch. Pastorianus I*, s'écarte de la règle formulée pour les levûres basses, et notamment le Carlsberg I et le Carlsberg II en concurrence avec le même *Pastorianus I*. L'analyse de la levûre ne se fera pas *toujours* plus facilement à la fin, ni la culture pure au commencement.

J'ai formulé cette conclusion en me maintenant strictement dans les limites de mes expériences, afin de ne point exclure la possibilité de la généralité de la règle envisagée d'une autre manière, par exemple en prenant pour mesure du moment de comparaison l'atténuation plutôt que le temps.

Quoi qu'il en soit, on est en droit de dire que la levûre haute, *Sacch. cerevisiœ I*, ne se comporte pas de la même façon que les deux levûres basses Carlsberg I et II, en concurrence avec le *Sacch. Pastorianus I*.

Ce n'est pas là une exception à la règle dont M. Hansen a fait entrevoir la généralité pour la fermentation basse de la brasserie, car, dans le cas actuel, il s'agit d'une levûre haute. Jamais on ne peut conclure des propriétés d'une levûre basse à celles d'une levûre haute, surtout dans les questions où, comme dans celle-ci, le transport mécanique joue un rôle prépondérant.

Je ne veux pas dire par là que toutes les levûres hautes s'écartent de la loi, c'est là un point que nous ignorons complétement pour le moment, mais qui mérite notre attention. Du reste, nous allons retrouver immédiatement un cas où l'infection est plus grande à la fin qu'au commencement.

Sacch. cerevisiœ I et *Sacch. Pastorianus III*. — Le moût de bière a été mis en levain avec des quantités variables de cellules ; la première prise d'essai a été faite au commencement de la fermentation, c'est-à-dire après 24 heures pour tous les cas, la seconde à la fin, c'est-à-dire au bout de 144, 168, 192, 216 heures d'après les essais. Le liquide a

été laissé en repos, sauf dans deux vases où il y a eu une forte agitation après la première prise d'essai.

Dans les 15 expériences que j'ai faites, une augmentation d'infection a eu constamment lieu à la fin de la fermentation dans les couches supérieures du liquide. En conséquence, le mélange de *Sacch. cerevisiæ I* et de *Sacch. Pastorianus III* obéit à la règle générale pour la concurrence des levûres basses avec des levûres sauvages; on se servira des cellules qui se trouvent dans les couches supérieures du liquide, au commencement de la fermentation principale pour la culture pure, à la fin pour l'analyse.

Je fais remarquer ici que l'on doit s'assurer toujours que la fermentation est suffisamment avancée; dans une série, en effet, j'ai trouvé que la règle était vraie le dixième jour, mais pas le huitième.

Ces résultats mettent dès à présent en lumière les différences propres aux espèces, même dans le phénomène de la concurrence; l'examen ultérieur des essais jettera encore un plus grand jour sur cette vérité, qui est une nouvelle confirmation de la doctrine de M. Hansen sur les espèces de Saccharomyces. La seule comparaison du commencement et de la fin de la fermentation principale, montre une différence radicale entre le *Sacch. Pastorianus I* et le *Sacch. Pastorianus III*, mis à concourir dans des conditions analogues avec une même levûre haute de culture : le *Sacch. cerevisiæ I.* D'un autre côté, les levûres sauvages restant les mêmes, les choses se passent tout différemment avec les diverses espèces de culture; les levûres basses Carlsberg I, Carlsberg II, constituent un groupe qui produit des résultats complétement autres que le *Sacch. cerevisiæ I.*

Où gît la différence? Quel concours de circonstances amène cette diversité dans les résultats? C'est là un problème d'un haut intérêt, mais dont la solution ne peut être obtenue que par un grand nombre de recherches présentant souvent de sérieuses difficultés. Le désir toutefois de pénétrer un peu plus intimement le phénomène m'a amené à instituer quelques expériences; mais je n'en donne l'analyse qu'avec les réserves les plus expresses sur la généralité des faits qu'elles présentent.

SÉRIE I

Sacch. Cerevisiæ I et Sacch. Pastorianus I

	Ensemencement	Commencement		Fin	
		Couches supérieures	Masse totale	Couches supérieures	Masse totale
A					
Rapport des *S. Cerevisiæ I* aux *S. Pastorianus I*............	18	4.0	6.6	7.1	9.5
Nombre de *S. Cerevisiæ I* contenus dans l'unité de volume....	196	376	944	281	1686
Nombre de *S. Pastorianus III* contenus dans l'unité de volume	10.9	94	143	39	177
Rapport de ces nombres aux diverses phases à celui de l'ensemencement :					
Pour les *S. Cerevisiæ I*.........	1	1.91	4.81	1 43	8.60
Pour les *S. Pastorianus I*.......	1	8.62	13.3	3.57	16.2
Multiplication totale des cellules entre deux périodes :					
Pour les *S. Cerevisiæ I*.........		4.81		1.78	
Pour les *S. Pastorianus I*		13.3		1.21	
B					
Rapport des *S. Cerevisiæ I* aux *S. Pastorianus I*............	8.5	2.48	3.6	2.1	5.2
Nombre de *S. Cerevisiæ I* contenus dans l'unité de volume....	167	404	866	204	1604
Nombre de *S. Pastorianus III* contenus dans l'unité de volume	19.6	163	240	97	308
Rapport de ces nombres aux diverses phases à celui de l'ensemencement :					
Pour les *S. Cerevisiæ I*.........	1	2.41	5.18	1.22	9.60
Pour les *S. Pastorianus I*.......	1	8.31	12.2	4.94	15.7
Multiplication totale des cellules entre deux périodes :					
Pour les *S. Cerevisiæ I*.........		5.18		1.85	
Pour les *S. Pastorianus I*.......		12.2		1.28	

SÉRIE II

Sacch. Cerevisiæ I et Sacch. Pastorianus III

	Ensemencement	Commencement		Fin	
		Couches supérieures	Masse totale	Couches supérieures	Masse totale
A					
Rapport des *S. Cerevisiæ I* aux *S. Pastorianus III*..........	78	377	110	23.6	22
Nombre de *S. Cerevisiæ I* contenus dans l'unité de volume ...	179	244	900	259	1795
Nombre de *S. Pastorianus III* contenus dans l'unité de volume	2.29	0.64	8.18	10.9	81.6
Rapport de ces nombres aux diverses phases à celui de l'ensemencement :					
Pour les *S. Cerevisiæ I*.........	1	1.36	5.02	1.44	10.0
Pour les *S. Pastorianus III*	1	0.28	3.57	2.29	35.7
Multiplication totale des cellules entre deux périodes :					
Pour les *S. Cerevisiæ I*.........		5.02		2.0	
Pour les *S. Pastorianus III*.....		3.57		10.0	
B					
Rapport des *S. Cerevisiæ I* aux *S. Pastorianus III*	12.2	26	18.7	12.4	4.6
Nombre de *S. Cerevisiæ I* contenus dans l'unité de volume....	157	270	725	523	1673
Nombre de *S. Pastorianus III* contenus dans l'unité de volume	12.8	10.3	38.7	42	360
Rapport de ces nombres aux diverses phases à celui de l'ensemencement :					
Pour les *S. Cerevisiæ I*.........	1	1.72	4.62	3.33	1065
Pour les *S. Pastorianus III*....	1	0.80	3.02	2.28	28.8
Multiplication totale des cellules entre deux périodes :					
Pour les *S. Cerevisiæ I*.........		4.62		2.30	
Pour les *S. Pastorianus III*....		3.02		9.30	

Je veux simplement y montrer *comment dans un cas particulier, dans des circonstances spéciales, l'augmentation d'infection peut se produire,* et en même temps mettre en lumière certains faits nouveaux qui ont été acquis par un grand nombre d'expériences.

J'ai expérimenté avec le *Sacch. cerevisiæ I,* en concurrence tantôt avec le *Sacch. Pastorianus I,* tantôt avec le *Sacch. Pastorianus III.* Dans ces essais j'ai déterminé, à l'aide d'une numération, la teneur en cellules des couches supérieures et la teneur totale, au bout de 24 heures d'abord, puis à la fin de la fermentation (144 et 168 heures).

Le fait seul de déterminer la teneur totale au commencement, détermination qui nécessite une agitation de toute la masse, écarte les expériences des conditions normales. Pour le reste, pour autant que je puis juger des circonstances, les deux séries étaient sensiblement soumises aux mêmes influences, la comparaison des chiffres qui donnent le nombre des *Sacch. cerevisiæ* dans l'unité vient confirmer cette opinion. Les résultats sont donc comparables.

Dans la série I, ensemencée avec un mélange de *Sacch. cerevisiæ I* et de *Sacch. Pastorianus I,* du premier au second jour le nombre total des *S. cerevisiæ I,* dans l'unité de volume a été porté de 1 à 4.81 et à 5.18, — celui des cellules de *S. Pastorianus I* à 13.3 et 12.2, de sorte que le *Sacch. Pastorianus I* s'est multiplié respectivement

$$\frac{13.3}{4.81} = 2.76 \text{ et } \frac{12.2}{5.18} = 2.35$$

fois autant que le *Sacch. cerevisiæ I.*

Au second jour, l'unité de volume ne contient que 1.91 et 2.41 de *S. cerevisiæ* (la teneur initiale étant prise pour unité) et 8.62 et 8.31 de *Sacch. Pastorianus I.* Il en résulte que, du premier au second jour, une partie des cellules a quitté les couches supérieures, puisqu'il s'y en trouve moins que dans le cas où la multiplication aurait été uniforme dans tout le liquide et que l'on sait que le bourgeonnement est le plus grand à la partie supérieure. J'appelle transport mécanique cette action, prise *in globo,* qui fait que le nombre de cellules trouvées dans les couches supé-

rieures est différent de celui qui devrait y être *si la multiplication était uniforme.* Grâce à ce transport mécanique, qui peut être positif ou négatif, il n'est resté de la quantité totale des cellules qui devaient se trouver dans les couches supérieures :

en fait de *S. cerevisiæ,* que

$$\frac{1.91}{4.81} = 0.40$$

$$\frac{2.41}{5.18} = 0.465$$

et, en fait de *S. Pastorianus I,* que

$$\frac{8.62}{13.3} = 0.65$$

$$\frac{8.31}{12.2} = 0.68$$

Ces fractions sont dans le rapport de

$$\frac{0.65}{0.40} = 1.62$$

$$\text{et } \frac{0.680}{0.465} = 1.46$$

La multiplication des facteurs qui expriment l'infection, c'est-à-dire l'accroissement proportionnel du *S. Pastorianus I,* due à la différence du bourgeonnement, et l'infection due à la différence du transport mécanique chez les deux espèces, nous donne l'infection totale :

$$2.76 \times 1.62 = 4.47$$

$$2.35 \times 1.46 = 34.3$$

Dans la série ensemencée avec un mélange de *Sacch. cerevisiæ I* et de *Sacch. Pastorianus III,* pendant les premières 24 heures le *S. cerevisiæ I* se multiplie dans le rapport de 1 à 5.02 et à 4.62, et le *S. Pastorianus III* dans celui de 1 à 3.57 et à 3.02.

La multiplication des *S. Pastorianus III* est à celle du *S. cerevisiæ I* comme

$$3.57 : 5.02 :: 0.71 : 1$$

$$3.02 : 4.62 :: 0.65 : 1$$

Mais, dans le même laps de temps, le transport mécanique ne laisse dans les couches supérieures, en fait de *S. cerevisiæ I,* que

$$\frac{1.36}{5.02} = 0.27$$

$$\text{et} \quad \frac{1.72}{4.62} = 0.37$$

et, en fait de *Sacch. Pastorianus III,* que

$$\frac{0.28}{3.57} = 0.08$$

$$\frac{0.80}{3.02} = 0.26$$

de la quantité obtenue par la multiplication supposée uniforme. En conséquence, par le fait du transport mécanique, la fraction du *S. Pastorianus III* qui reste dans les couches supérieures est à celle du *S. cerevisiæ I* qui s'y trouve, dans le rapport de

$$\frac{0.08}{0.27} = 0.3$$

$$\frac{0.26}{0.37} = 0.7$$

L'infection totale donnée par la multiplication des deux facteurs qui l'occasionnent est

$$0.71 \times 0.3 = 0.21$$

$$0.65 \times 0.7 = 0.455$$

Les nombres qui expriment l'infection totale des couches supérieures d'un moût en fermentation depuis 24 heures, sous l'action d'un mélange de *Sacch. cerevisiæ I* et de *Sacch. Pastorianus I,* sont plus grandes que l'unité et indiquent par conséquent une infection réelle qui est considérable.

Les nombres correspondants pour le mélange du *Sacch. cerevisiæ I* et du *Sacch. Pastorianus III* sont fraction-

naires, plus petits que l'unité, et sont ainsi la traduction d'une purification.

A ce point de vue, il y a donc encore une différence essentielle entre le *Sacch. Pastorianus I* et le *Sacch. Pastorianus III*, mis à concourir avec le *Sacch. cerevisiæ I*. Tous nos essais la mettent en évidence.

Dans les douze cas où j'ai fait, dans ce but, une numération directe du *S. Pastorianus I* et du *S. cerevisiæ I*, j'ai trouvé que le rapport entre les cellules de culture et les cellules sauvages du mélange servant d'ensemencement était plus fort que le rapport qui existe entre les mêmes cellules dans les couches supérieures du moût au commencement de la fermentation. Il y a eu constamment une forte infection.

Pour le *S. Pastorinus III* et le *S. cerevisiæ I*, au contraire, 14 cas ont donné un rapport plus faible à l'ensemencement qu'au commencement; par conséquent, il y a eu purification. Dans un seul cas, le rapport a été trouvé un peu plus fort : il y a eu une infection, mais *très faible*.

Il résulte de ces essais que, la quantité de cellules de *Sacch. cerevisiæ I* étant prise pour point de comparaison, le nombre relatif des *Sacch. Pastorianus I* augmente beaucoup plus considérablement que celui des *Sacch. Pastorianus III*, dans les couches supérieures du moût, pendant les 24 premières heures de la fermentation, — ou encore, pendant ce laps de temps, l'infection provoquée par le *Sacch. Pastorianus I* est toujours beaucoup plus forte que celle qui résulte du *Sacch. Pastorianus III*, quand celui-ci en produit une, fait rare qui n'a été trouvé qu'une seule fois sur quinze essais.

Le facteur qui traduit l'infection totale est complexe : il se compose lui-même d'un premier facteur qui correspond au bourgeonnement et d'un second qui englobe le transport mécanique. Ici encore, dans les deux séries, il y a une différence essentielle entre les deux levûres sauvages. Avec le *Sacch. Pastorianus I*, les deux éléments sont plus grands que l'unité, c'est-à-dire que, dans les *cas particuliers* que nous considérons seuls, l'infection était due d'abord à une multiplication plus grande du *S. Pastorianus I* comparée au *S. cerevisiæ I*, ensuite à un départ

moins abondant des mêmes cellules par suite du transport mécanique.

Le *S. Pastorianus III* se comporte tout autrement : les deux éléments sont fractionnaires ; il se multiplie moins vite que le *S. cerevisiæ I* pendant les premières 24 heures, et en même temps il quitte, toute proportion gardée, plus rapidement les couches supérieures.

Ces faits ont une grande importance pratique : On sait que les brasseurs cherchent souvent à combattre la dégénérescence des levûres en mettant le moût en levain avec les cellules jeunes qui se sont développées dans une portion de moût, et qui sont ajoutées suspendues dans le moût où elles ont pris naissance. Ce procédé, que les Allemands désignent sous le nom de « das Zeug herführen, » a ses partisans et ses adversaires. Certains praticiens disent avoir obtenu, par ce moyen, des résultats excellents ; d'autres l'ont employé sans succès. Ne pourrait-on pas trouver l'explication de ces résultats contradictoires dans les faits que je viens de signaler? Les premiers auraient expérimenté avec des mélanges où la levûre sauvage se comportait à l'égard de la levûre de culture comme le le *Sacch. Pastorianus III* à l'égard du *Sacch. cerevisiæ I* : ces mélanges se purifiaient. Les seconds, au contraire, auraient eu un mélange analogue à celui du *Sacch. cerevisiæ I* et du *Sacch. Pastorianus I* : ils auraient eu une infection dès le commencement.

Par rapport à ce procédé, les deux essais faits avec le *Sacch. cerevisiæ I* et le *Sacch. Pastorianus III*, où la masse totale de cellules a été évaluée, ont permis également de faire cette constatation précieuse ; la partie supérieure du liquide, au commencement de la fermentation, contient proportionnellement moins de *S. Pastorianus III* que toute la masse, et moins que le mélange d'ensemencement. D'après *ce cas particulier*, on obtiendrait, dans certains cas, une purification partielle de la levûre, en prenant cette partie supérieure pour la mise en levain.

Continuons l'examen des phénomènes et voyons les transformations que le bourgeonnement et le transport mécanique amènent dans les teneurs, pendant l'intervalle qui sépare le commencement de la fermentation de sa fin,

en n'oubliant pas nos réserves. Du second au dernier jour, dans la série où le *S. Pastorianus I* est en concurrence avec le *S. cerevisiœ I*, la multiplication totale des cellules a été dans le rapport de 1 à

1.78 et 1.85 pour le *S. Cerevisiœ I*,
1.21 et 1.28 pour le *S. Pastorianus I.*

Dans l'*hypothèse* où la multiplication est uniforme dans toute la masse du liquide, à la fin de la fermentation la teneur de l'unité dans les couches supérieures serait en *S. cerevisiœ I :*

$$376 \times 1.78 = 669$$
$$404 \times 1.85 = 747$$

en *S. Pastorianus I :*

$$94 \times 1.21 = 113$$
$$163 \times 1.28 = 208$$

si le transport mécanique était nul.

En réalité, celui-ci agit continuellement sur les cellules; il est la cause de la différence qui existe entre la teneur réelle et celle qui devrait exister par suite du bourgeonnement supposé uniforme.

Le transport mécanique ne laisse dans l'unité de volume à la partie supérieure que les

$$\frac{281}{669} = 0.42$$
$$\frac{204}{747} = 0.27$$

des cellules de *S. cerevisiœ I* qui y naissent.

$$\frac{39}{113} = 0.34$$
$$\frac{97}{208} = 0.46$$

des cellules de *S. Pastorianus I.*

Le rapport des multiplications du *S. Pastorianus I* et du *S. cerevisiæ I* est exprimé par les fractions :

$$\frac{1.21}{1.78} = 0.68$$

$$\frac{1.28}{1.85} = 0.69$$

chiffres qui nous indiquent que du chef du bourgeonnement, il y a purification.

Le rapport des fractions de *S. Pastorianus I* et de *S. cerevisiæ I* qui restent à la partie supérieure est :

$$\frac{0.34}{0.42} = 0.81 \quad \text{dans le premier cas.}$$

$$\frac{0.46}{0.27} = 1.70 \quad \text{dans le deuxième cas.}$$

Nous obtenons ainsi une infection totale, par rapport au commencement, de

$$0.68 \times 0.81 = 0.55$$
$$0.69 \times 1.70 = 1.17$$

chiffres qui expriment en réalité, pour le premier cas, une purification, et pour le second cas une infection.

Dans le mélange du *S. cerevisiæ I* et du *S. Pastorianus III*, la multiplication totale des cellules, qui a lieu entre le commencement et la fin de la fermentation principale, correspond aux chiffres

2.0 et 2.3 pour les *S. Cerevisiæ I.*
10.0 et 9.3 pour les *S. Pastorianus III.*

La multiplication du *S. Pastorianus III* est donc

$$\frac{10}{2.0} = 5.0$$

$$\frac{9.3}{2.3} = 4.0$$

fois plus forte que celle du *S. cerevisiæ I.* Il y a, de ce chef, une infection considérable. Dans l'hypothèse où la multi-

plication est uniforme dans toute la masse liquide ,et où il n'y a plus de transport mécanique à partir du second jour, la teneur en cellules de l'unité de volume dans les couches supérieures serait, à la fin de la fermentation :

$244 \times 2.0 = 488$

$270 \times 2.30 = 621$ pour le *S. Cerevisiæ I.*

$0.64 \times 10.0 = 6.4$

$10.3 \times 9.3 = 96$ pour le *S. Pastorianus III.*

En réalité, la teneur est différente, et cette différence est due au transport mécanique qui, dans un des cas, est positif. Ce transport mécanique fait qu'il reste à la partie supérieure :

$$\frac{259}{488} = 0.53$$

$$\frac{523}{621} = 0.84$$

$$\frac{10.9}{6.4} = 1.70$$

$$\frac{42}{96} = 0.44$$

Le rapport des fractions du *S. Pastorianus III* et du *S. cerevisiæ I* qui restent s'exprime par

$$\frac{1.70}{0.53} = 3.2$$

$$\frac{0.44}{0.84} = 0.52$$

de sorte que l'infection totale devient :

$5.0 \times 3.2 = 16.0$

$4.0 \times 0.52 = 2.08$

Les chiffres qui donnent la valeur de l'accroissement de l'infection totale sont plus grands que l'unité, et indiquent une infection réelle pour les essais où le *S. cerevisiæ I* est en concurrence avec le *S. Pastorianus III* et pour un des essais où le *S. Pastorianus I* est la levûre sauvage. Pour

l'autre essai, on a une fraction qui dénote une purification relative.

Je ne reviens pas sur la conclusion que j'ai déjà émise à ce sujet, mais je m'arrête à la considération des facteurs dont le concours nous explique les résultats. Pour la multiplication, on voit que le bourgeonnement du *S. Pastorianus I* est moins fort que celui du *S. cerevisiæ I* pendant la période qui sépare le commencement de la fin de la fermentation; le rapport est une fraction et nous indique de ce chef une purification. La multiplication du *S. Pastorianus III,* au contraire, est plus rapide que celle du *S. cerevisiæ I,* le rapport devient plus grand que l'unité, il y a infection réelle, et nous nous trouvons devant une nouvelle différence radicale entre les deux espèces.

Le rapport des fractions de la quantité primitive des cellules sauvages qui restent après l'action du transport mécanique aux fractions correspondantes pour les cellules de culture est tantôt plus grand, tantôt plus petit que l'unité dans les deux cas. Le point intéressant est que, dans la série où le *S. cerevisiæ I* fermentait avec le *S. Pastorianus I,* ce rapport, qui est plus grand que l'unité dans un essai, est suffisamment grand pour contrebalancer la purification due à un bourgeonnement moindre et donner une infection. Avec le *S. Pastorianus III,* dans le cas où il est fractionnaire, il n'est pas assez petit pour provoquer une purification.

L'infection des couches supérieures d'un moût en fermentation peut donc se produire de diverses façons. Le degré de pureté d'une unité de volume, à un moment déterminé, peut s'exprimer par le rapport des cellules de culture aux cellules sauvages qui s'y trouvent à cet instant. Les cellules qui sont suspendues dans un milieu nourricier convenable se multiplient en proportion variable d'après leur nature d'abord, d'après les circonstances extérieures ensuite. De ce fait, les deux termes du rapport augmentent; mais, comme leur augmentation n'est pas proportionnelle, le rapport s'altère dans l'un ou l'autre sens suivant le cas particulier. On obtient une purification si le bourgeonnement des levûres de culture est plus ra-

pide que celui des levûres sauvages. C'est le cas pour la première phase de la fermentation avec le *S. cerevisiœ I* et le *S. Pastorianus III;* pour la seconde, avec le *S. cerevisiœ I* et le *S. Pastorianus I.* Il y a infection si la levûre sauvage se multiplie le plus rapidement, comme dans certains cas, au commencement, avec le *S. Pastorianus I,* à la fin avec le *S. Pastorianus III.*

Mais ce n'est pas seulement par une multiplication des cellules, que des changements interviennent dans le rapport qui exprime le degré de pureté : les cellules se trouvent continuellement soumises à un autre facteur éminemment complexe, que j'ai appelé le transport mécanique, et qui n'est, en définitive, que la somme algébrique de plusieurs actions. Les cellules en suspension dans le liquide sont constamment en mouvement pendant la fermentation : elles quittent la position primitive où elles sont nées pour se rendre dans d'autres milieux, puis se déplacer encore. De plus, la multiplication n'est pas uniforme, mais plus rapide à certains endroits. La somme algébrique de ces deux facteurs est le transport mécanique. Il peut être positif ou négatif; il affecte différemment ment les diverses espèces, il amène ainsi une perturbation dans leur rapport, et provoque une purification ou une infection. Il y a purification quand un transport mécanique positif amène proportionnellement un plus grand nombre de cellules de levûre de culture, ou qu'un transport mécanique négatif élimine plus de cellules sauvages. Il y a infection dans les deux sens contraires. L'influence du transport mécanique est manifeste dans tous nos essais. Pour ne citer que deux exemples, dans les expériences de la série II, il augmente au commencement la teneur relative du *S. cerevisiœ I* en favorisant le départ du *S. Pastorianus III*, et, dans le second essai de la série I, il amène une infection finale par une élimination plus forte du *S. cerevisiœ I.*

Son action semble encore être évidente dans les essais où la levûre basse Carlsberg I est en concurrence avec les levûres sauvages. Dans une série, où j'ai fait fermenter du moût de bière avec un mélange de Carlsberg I et de *Sacch. ellipsoideus II*, j'ai trouvé, à la fin de la fermentation, la

masse totale de levûre beaucoup moins infectée que la partie supérieure. Le transport mécanique avait éliminé des couches élevées une quantité plus considérable de Carlsberg I que de *Sacch. ellipsoideus II*. Cette explication trouve d'ailleurs une certaine confirmation dans la tendance au dépôt plus grande que manifeste la première levûre dès le commencement de la fermentation, quand on pipette une portion de moût dans les verres hauts.

Le transport mécanique est plus complexe chez les levûres hautes que chez les levûres basses.

Je crois encore devoir signaler la différence qui existe dans l'infection des levûres superficielles et des levûres de dépôt. Quand le *Sacch. cerevisiæ I* est mélangé au *Sacch. Pastorianus 1*, qui est une levûre basse, la levûre du fond est plus infectée que la levûre du dessus. Avec le *Sacch. cerevisiæ I* et le *Sacch. Pastorianus III*, qui est une levûre haute, la levûre supérieure est la plus impure. C'est là une nouvelle preuve de la différence qui existe entre le *Sacch. Pastorianus I* et le *Sacch. Pastorianus III*, en concurrence avec le *Sacch. cerevisiæ I*.

ÉTUDE COMPARATIVE SUR LA VALEUR ANTISEPTIQUE
des solutions de Biiodure
de Bichlorure de mercure et de Fluosilicate de soude (Salufer)

PAR

Aloïs VIQUERAT

Depuis que R. Koch (1) a recommandé le sublimé corrosif comme antiseptique, cette substance a de plus en plus pénétré dans la pratique chirurgicale et s'y est créé une place qu'il serait difficile de lui enlever, si l'instabilité de ses solutions et sa toxicité ne rendaient pas, dans beaucoup de cas, son emploi délicat et même dangereux.

Les inconvénients de ce roi des antiseptiques ont mis les chirurgiens à la piste d'autres corps ayant ses qualités sans avoir ses défauts. On a cru trouver cet idéal dans le biiodure de mercure, corps plus stable et, d'après les données de Miquel (2), Panas (3) et Girard, désinfectant tout aussi énergiquement à une dilution bien plus forte que le sublimé corrosif.

Il nous a paru intéressant, à un moment où il semble que le biiodure tende à détrôner le sublimé, de contrôler, d'après les rigoureuses méthodes dont la bactériologie est redevable au Dr Koch, les résultats obtenus par les auteurs mentionnés et de faire une étude comparative de ces deux substances. J'allais entreprendre ce travail, lorsqu'on recommanda, dans la presse médicale (4), le fluosilicate de soude ou salufer, comme un excellent antiseptique, d'une inocuité complète; et, sur le désir de M. le professeur

---

(1) *Mittheilungen aus dem K. Gesundheitsamte.*

(2) *Annuaire de Montsouris*, 1884.

(3) *Semaine médicale*, n° 12, page 62, 1885.

(4) *Deutsch, med. Wochenschrift*, n° 87.

Dr Kocher, de Berne, je joignis l'étude de ce corps à celle des deux précédents.

La puissance désinfectante, l'inocuité, la stabilité des solutions ne sont pas les seules qualités que doit offrir une substance antiseptique devant servir en chirurgie, il faut aussi qu'elle n'irrite pas les plaies, qu'elle n'altère pas le poli des instruments ni les mains du chirurgien.

Notre étude, purement expérimentale, ne prendra pas en considération l'effet de ces substances sur les plaies, notre but principal est de fixer leur valeur désinfectante; nous étudierons ensuite, dans une série d'expériences, leur toxicité et nous ajouterons quelques considérations touchant leurs effets sur les instruments et les mains.

Avant d'aborder cette étude, je tiens à remercier ici M. le professeur Dr Kocher de son bienveillant intérêt et de l'amabilité avec laquelle il a mis à notre disposition le laboratoire de bactériologie attaché à sa clinique chirurgicale. Son chef de laboratoire, M. le Dr Tavel, a bien voulu nous diriger dans les recherches que nous avons entreprises à ce sujet, et nous sommes heureux de saisir cette occasion pour lui exprimer notre reconnaissance pour les judicieux conseils qu'il nous a donnés.

Introduction.

Dans une première série d'expériences, nous avons étudié comparativement la puissance désinfectante des trois sels en question en faisant agir, pendant un temps donné, leurs solutions aqueuses sur les différents microbes. Pour cela, nous avons employé la méthode des fils de soie, desséchés après avoir été imbibés dans une émulsion des microbes à étudier. Dans ces expériences, on ne tient pas compte de la proportion existant entre le désinfectant et la substance à désinfecter, le premier étant au second dans une proportion telle que ce facteur devient négligeable.

Le but de notre travail est l'étude de la désinfection dans la pratique chirurgicale, et pour répondre à ce but, utile avant tout, nous avons institué nos recherches de manière à nous renseigner sur l'action des solutions, en nous rap-

prochant autant que possible des conditions dans lesquelles elles sont employées en chirurgie.

Dans une seconde série d'expériences, nous étudions la valeur désinfectante des solutions, en présence d'une quantité déterminée de bouillon de culture et pendant un temps donné. Nous parlerons ensuite de quelques expériences sur la désinfection de la matière sous-unguéale.

Quelques essais faits avec des instruments de chirurgie nous renseigneront sur les avantages ou les inconvénients de ces solutions pour la désinfection des instruments.

En terminant, nous avons encore institué un groupe d'expériences comparatives sur les lapins et les cobayes, touchant la toxicité des solutions employées, introduites par voie stomacale ou hypodermique.

§ I. De l'action des Antiseptiques considérés sur quelques organismes bactériens.

Après les premières expériences de Koch, le sublimé fut introduit dans la pratique chirurgicale par Bergmann, puis chaudement recommandé par Schede (1); depuis un certain temps déjà, il était employé dans la pratique obstétricale.

Gouguenheim l'employa même en injections parenchymateuses dans la tuberculose pulmonaire (2) ainsi que Riva (3). Le sublimé ayant l'inconvénient de coaguler l'albumine, Laplace (4) remédia à ce désavantage en acidifiant ses solutions avec de l'acide tartrique, de sorte qu'aucune coagulation n'a lieu et la désinfection est ainsi beaucoup plus sûre. Aujourd'hui, la solution de Laplace a gagné toutes les cliniques et l'acide phénique n'est conservé que pour la désinfection des instruments.

Enfin, le sublimé, que sa réputation justifiée a placé au

(1) *Samlung Kl. Vortrage,* nr 251.

(2) *Gazette hebd. de Méd. et de Chirurgie,* n° 3, page 41, 1886.

(3) *Il Morgagni Anno XXIX,* parte II, nr 12, page 157, Mai.

(4) *Deutsche med. Wochensch.,* n° 40, 1887.

premier rang des antiseptiques, devait nécessairement nous servir de type comparatif, car son action microbicide a été définitivement établie par une foule d'expériences sérieuses et par des résultats ayant une éloquennce plus grande encore. La solution à 1 : 1000 étant la plus généralement employée et étudiée au point de vue de la désinfection, sera la solution type.

Le biiodure de mercure, employé par Panas dans la chirurgie oculaire, et recommandé dernièrement par le Dr Girard, à Berne, comme antiseptique, moins toxique que le sublimé, a été étudié en solution à 1 : 5000 d'après la solution employée par lui; mais, pour pouvoir le comparer avec la même solution de sublimé, nous l'avons aussi employé en solution à 1 : 1000.

Le biiodure est dissous dans l'eau à la faveur de l'iodure de potassium, qui n'a aucune influence sur sa valeur antiseptique. Dans une série de recherches, Miquel avait déjà étudié la valeur désinfectante de diverses substances, et en particulier du biiodure. Ses expériences sont bonnes, mais ses conclusions inexactes, car il conclut à la désinfection par suite de l'arrêt de développement des germes; à notre avis, cet arrêt du développement n'implique pas une destruction complète du microbe, qui peut avoir conservé toute sa virulence sans pouvoir se développer à cause du milieu défavorable dans lequel il se trouve. Koch a d'ailleurs insisté sur cette différence entre la valeur *entravante* et la valeur *désinfectante* des antiseptiques, point qui nous paraît particulièrement important pour la chirurgie; notre travail visera uniquement la puissance *désinfectante*, c'est-à-dire la puissance destructive et anéantissante du microbe (1).

---

(1) *Note du rédacteur principal.* — Les expériences auxquelles M. Viquerat fait allusion ont eu pour but unique la détermination des *poids minima de quelques substances chimiques capables de s'opposer à la putréfaction d'un litre de bouillon de bœuf.* Mais je n'ai jamais confondu la *destruction* des germes avec leur *immobilisation*, dans tous mes mémoires publiés sur ce sujet, j'ai, au contraire, attiré l'attention sur les substances qui paralysent le développement des germes et sur celles qui les tuent irrévocablement (voir *Semaine médicale* du 30 août 1883. — *Les Organismes vivants de l'atmosphère*, 1883. — *Annuaires de Montsouris*, pour 1883 et 1884).

Ajoutons encore que MM. Miquel et Rueff (1) ont aussi employé le biiodure en inhalations dans la tuberculose pulmonaire.

Le fluosilicate de soude, $SiFl^6Na^2$, est un sel blanc soluble dans 5,000 parties d'eau, il a été recommandé comme antiseptique en solution à 6 : 1000, mais il ne se dissout de fait que dans les proportions de 5 gr. pour 1 litre d'eau, solution qui représente son maximum de solubilité dans ce liquide. La solution se trouble au bout de quelques jours et l'on y voit apparaître des flocons blancs, qui ne sont que des moisissures, ce qui nous éclaire déjà sur son faible pouvoir désinfectant.

Ce sel a été introduit dans la pratique par Thompson (2), qui l'employait en solution 1 : 500. Mago Robson (3) le vante comme excellent antiseptique et comme agent désodorisant dans les cas de plaies du rectum ou de cancers utérins.

Entrons maintenant dans quelques détails concernant notre technique opératoire. L'eau distillée, stérilisée par une ébullition de dix minutes, nous a servi, à l'exemple des expériences de R. Koch, de contrôle ; le ballon qui la renfermait était bouché avec de la ouate stérilisée, laissant filtrer la vapeur pendant l'ébullition.

Les matras, ballons, tubes, éprouvettes, cristallisoirs, ont été stérilisés préalablement. Pour la préparation des fils, nous nous sommes servis de la soie fine en écheveau qui est employée dans la clinique ; on trouve de la soie plus fine encore, et Koch recommande l'emploi d'une soie aussi fine que possible, pour que le contact des solutions désinfectantes avec les microbes soit plus facile et plus direct.

Woronzoff, Winogradoff et Kolessnikoff (4) ont fait leurs expériences avec des fils de verre, méthode qui paraît plus exacte encore, en excluant le facteur toujours variable de l'épaisseur du fil et de la résistance qu'il peut opposer à l'action du liquide snr les microbes qui se trouvent à son centre. Nous n'avons pas cependant cru devoir employer

---

(1) *Semaine médicale*, page 481, 1888.

(2) et (3) *Britisch Med Journal et Gaz. heb.*, 1888.

(4) *Russkaia Medicina*, 1886, nos 3 et 32. Russe.

ce procédé qui donne, il est vrai, des résultats plus justes théoriquement, mais nous avons préféré choisir la soie pour nous rapprocher des conditions pratiques dans lesquelles elle est ordinairement employée en chirurgie.

Les fils de soie avaient en moyenne 1^{cm} de long et étaient complètement stérilisés, puis placés dans un godet en verre également stérilisé et bien fermé. Ces fils étaient alors introduits au moyen d'une pince flambée dans de petits cristallisoirs contenant les liquides infestants préparés comme suit : Une culture pure sur pomme de terre ou sur gélose, des différents microbes à étudier, était râclée avec une spatule flambée, puis broyée dans un petit cristallisoir avec de l'eau distillée stérilisée. Les fils demeuraient généralement deux heures dans ce liquide et étaient roulés à l'aide de la spatule dans l'émulsion, de façon à être complètement imprégnés des germes à étudier. A l'aide d'une pince en platine, que l'on flambait préalablement, on prenait un par un ces fils que l'on étalait sur une plaque de verre stérilisée qu'on recouvrait ensuite d'une cloche pendant la dessication prolongée, 6 à 8 jours pour les fils secs, et une demi-heure pour les fils humides. Les solutions antiseptiques et l'eau distillée stérilisée se trouvaient dans de petits cristallisoirs d'une contenance d'environ 50^{cmc} de liquide qu'on stérilisait par un lavage préalable dans du sublimé à 1 : 1000 et qu'on traitait ensuite par l'alcool absolu pour enlever le sublimé resté adhérent aux parois, enfin par l'éther pour enlever l'alcool.

A côté des cristallisoirs soigneusement étiquetés, contenant les solutions désinfectantes (environ 50^{cmc}), on plaçait une série d'autres cristallisoirs plus petits renfermant de l'eau distillée stérilisée, servant à débarrasser les fils à leur sortie des solutions antiseptiques de l'excès du liquide antiseptique dont ils étaient imbibés. Après un séjour d'une demi-heure dans ces derniers godets ils étaient introduits, à l'aide de la pince de platine stérilisée, dans des éprouvettes de gélatine peptonisée, stérilisée ou sur gélose à l'aide de l'aiguille de platine. La gélatine était ensuite liquéfiée par un séjour des éprouvettes dans de l'eau chauffée entre 25 et 30° et les fils mis en contact avec le milieu nutritif pendant une demi-heure, après quoi on

roulait la gélatine en plaques d'Esmarch. Nous recommandons très-vivement ce procédé qui ne mérite en aucune façon les critiques qui lui ont été faites.

Les éprouvettes, roulés en plaques d'Esmarch, ont été observées toujours pendant au moins un mois; pour quelques expériences, dont le résultat paraissait douteux, les tubes ont été remis à l'étuve pendant quelques jours et le résultat n'a été noté qu'après s'être assuré si, dans ces conditions, la croissance avait eu lieu.

Les tableaux suivants résument brièvement les résultats de nos expériences dans lesquels:

Le signe + signifie croissance sous forme de colonies du microbe inoculé dans la gélatine.

Le signe — signifie que rien n'y a poussé; en outre, quelques annotations spéciales expliquent certains accidents arrivés malgré la plus scrupuleuse attention.

TABLEAU I. *Bacille typhique* (fils inoculés sur la gélatine)

Durée de l'immersion	Contrôle avec eau stérilisée	$HgCl^2$ 1 : 1000	HgI^2 1 : 1000	HgI^2 1 : 5000	$SiFl^6Na^2$ 1 : 1000	$SiFl^6Na^2$ 5 : 1000
1 min.	+ bcp (beaucoup de colonies)	+ (peu de colonies)	+ quelq.-unes	+ peu	+ bcp	+ bcp
5 min.	+ bcp	+ peu	+ peu	+ peu	+ bcp	+ bcp
15 min.	+ bcp	—	+3 petites colonies	+ très peu	+ bcp	+ bcp
2 h.	+ bcp	—	—	—	+ bcp	+ bcp
1 jour	+ bcp	—	—	—	—	—
3 jours	+ peu	— (1)	—	—	—	—

(1) Infesté fortuitement par un microorganisme liquéfiant.

On compte généralement une infection fortuite sur 30 à 40 éprouvettes roulées en plaques d'Esmarch, c'est ce qui

a eu lieu dans cette expérience avec le fil plongé dans la solution de sublimé pendant trois jours.

Une expérience semblable faite avec une culture pure du bacille de la morve n'a donné aucun résultat, car nous nous étions servi de gélatine au lieu de gélose, et la température n'avait pas pu être assez élevée pour amener le développement des colonies qui ne se forment qu'à une température dépassant 25°, c'est-à-dire à un degré de chaleur qui liquéfie la gélatine. La dessication des fils infectés par le bacille de la morve prolongée pendant dix jours donne lieu à une destruction des germes qui ne poussent plus sur la gélose à 32°, tandis que le fil infecté de morve, desséché à la température du laboratoire (20°) pendant deux heures, y croît parfaitement.

TABLEAU II. *Bacillus anthracis* (fils inoculés sur la gélatine)

Durée de l'immers^{on}	Contrôle avec l'eau stérilisée	$HgCl^2$ 1 : 1000	HgI^2 1 : 1000	HgI^2 1 : 5000	$SiFl^6Na^2$ 1 : 1000	$SiFl^6Na^2$ 5 : 1000
1 m.	+ bcp	+ bcp	+ peu	+ passab.	+ bcp	+
5 m.	+ bcp	+ quelq.-unes	+ passablement	+ passab.	+ bcp	+
15 m.	+ bcp	—	+ quelq.-unes	+ passab.	+ bcp	+
2 h.	+ bcp	—	—	+ quelq.-unes	+ bcp	+
1 jour	+ bcp	—	—	—	+ passabl.	+
3 jours	+ bcp	—	—	—	+ 2-3 col. le long du fil	+ quelques colonies collées au fil

Les expériences de 2 heures, 1 jour et 3 jours, ont été répétées deux fois, toujours avec les mêmes résultats. Cette expérience est très démonstrative vu la grande résistance des spores du charbon. La culture enployée (prise sur des pommes de terre) était en voie de sporulation.

Tableau III. *Bacillus pyogenes fœtidus* (fils inoculés sur la gélatine)

Durée de l'immers^{on}	Contrôle avec l'eau stérilisée	Hg Cl^2 1 : 1000	Hg I^2 1 : 1000	Hg. I^2 1 : 5000	Si Fl^6 Na^2 1 : 1000	Si Fl^6 Na^2 5 : 1000
1 m.	+ bcp	+ bcp	+ (1)	+ bcp	+ bcp	+ bcp
5 m.	+ bcp	—	—	—	+ bcp	+ bcp
15 m.	+ bcp	—	—	—	+ bcp	+ bcp
2 h.	+ bcp	—	—	—	+ bcp	+ bcp
1 jour	+ bcp	—	— (2)	—	—	—

(1) Au bout de plusieurs jours, il commence à se développer quelques colonies caractéristiques; il y a eu retard de développement.

(2) Infecté par un organisme fluidifiant. L'expérience Hg I^2 à 1 : 1000 pendant 1 jour, refaite, a donné un résultat également négatif.

Tableau. IV. *Bacillus subtilis* (fils inoculés sur agar-agar)

Durée de l'immers^{on}	Contrôle avec l'eau stérilisée	Hg Cl^2 1 : 1000	Hg I^2 1 : 1000	Hg I^2 1 : 5000	Si Fl^6 Na^2 1 : 1000	Si Fl^6 Na^2 5 : 1000
1 m.	+	+	+	+	+	+
5 m.	+	+	+	+	+	+
15 m.	+	—	+	+	+	+
2 h.	+	—	+	+	+	+
1 jour	+	—	+ (1)	+	+	+
3 jours	+	—	+	+	+	+

(1) Le fil est resté 3 jours à l'étuve infertile : il y a eu retard de développement. Les fils infestés avaient subi une dessication de 8 jours.

Onze jours plus tard, les éprouvettes sont sorties de l'étuve et l'on remarque partout des cultures caractéristi-

ques, sauf pour le sublimé à partir de 15 minutes d'immersion. Les expériences de 2 heures, 1 jour et 3 jours, ont été répétées trois fois toujours avec les mêmes résultats, elles sont d'une éloquence remarquable étant donnée la résistance bien connue du *Bacillus subtilis*, qui survit à la cuisson dans l'eau bouillante prolongée pendant plusieurs heures.

Les époouvettes examinées encore une fois, un mois après, donnent toujours les mêmes résultats.

Ici, le sublimé se montre bien supérieur au biiodure : il agit beaucoup plus énergiquement que lui sur le microbe le plus résistant que nous ayons employé dans nos expériences.

TABLEAU V. *Bacillus strumitis* (fils inoculés sur la gélatine)

Durée de l'immers^on	Contrôle avec l'eau distil. stéril.	$HgCl^2$ 1 : 1000	HgI^2 1 : 1000	HgI^2 1 : 5000	$SiFl^6Na^3$ 1 : 1000	$SiFl^6Na^2$ 5 : 1000
1 m.	+ bcp	— (1)	—	—	+ bcp	+ bcp
5 m.	+ bcp	—	—	—	+ bcp	+ bcp
15 m.	+ bcp	—	—	—	—	—
2 h.	+ bcp	—	—	— (2)	—	—
1 jour	+ bcp	—	—	—	—	— (3)

(1) Eprouvette infestée fortuitement, il n'y a pas de bacilles de la strumite, car la gélatine est liquéfiée.

(2) Eprouvette infestée par une moisissure.

(3) Eprouvette infestée par une moisissure, ceci ne nous étonne nullement, car la solution de fluosilicate de soude à 5 : 1.000 que nous diluons avec de l'eau distillée stérilisée pour avoir la solution à 1 : 1.000 renferme, comme nous l'avons déjà dit, un grand nombre de flocons blancs formés de mucédinées diverses.

Ce bacille, trouvé par M. le Dr Tavel dans des cas de strumite aiguë consécutive à un catarrhe intestinal fébrile, est très mobile, il croît très bien sur la gélatine qu'il ne liquéfie pas ; sa culture ressemble un peu à celle du typhus.

TABLEAU VI. *Bacillus pyocyaneus* (fils inoculés sur la gélatine)

Durée de l'immers°n	Contrôle avec l'eau stérilisée	Hg Cl² 1 : 1000	Hg I² 1 : 1000	Hg I² 1 : 5000	Si Fl⁶ Na² 1 : 1000	Si Fl⁶ Na² 5 : 1000
1 m.	+	+ (2)	+	+	+	+
5 m.	+	—	—	+	+	+
15 m.	+	—	—	—	— (1)	—
2 h.	+	—	—	—	—	— (1)
1 jour	+	—	—	—	— (1)	—

(1) Infection par des moisissures contenues dans la solution de fluosilicate de soude qui a servi dans nos expériences.

(2) Le tube Hg Cl², pendant une minute, ne se développe qu'au bout de 15 jours ; il y a eu retard de développement.

Les fils desséchés pendant 10 jours (20°) ne donnent lieu à aucune croissance.

TABLEAU VII. *Staphylococcus citreus* (fils inoculés sur la gélatine)

Durée de l'immers°n	Contrôle avec l'eau stérilisée	Hg Cl² 1 : 1000	Hg I² 1 : 1000	Hg I² 1 : 5000	Si Fl⁶ Na² 1 : 1000	Si Fl⁶ Na² 5 : 1000
1 m.	+ bcp	+ (1)	+	+	+ bcp	+ bcp
5 m.	+ bcp	+ (2)	+	+	+ bcp	+ bcp
15 m.	+ bcp	+ (3)	+	+	+ bcp	+ bcp
2 h.	+ bcp	—	+ (4)	+ (5)	+ quelques-unes	+ bcp
1 jour	+ bcp	—	—	—	+ (6) colon. rares	+ passablement
2 jours	+ bcp	—	—	—	—	—
3 jours	+ bcp	—	—	—	—	—

(1) Les colonies, moins nombreuses que dans le centre des tubes, ne sont visibles qu'au sixième jour.

(2) Même retard de développement que ci-dessus pour le sublimé et le biiodure de mercure.

(3) Stérile le 3 novembre (l'expérience datait du 31 octobre), on observe quelques rares colonies le 5, tandis que dans les autres éprouvettes il y en a beaucoup.

(4) Le 7 novembre, on voit également trois colonies en dehors du fil et quelques-unes dans son voisinage immédiat.

(5) Le 7 novembre, on voit aussi quelques colonies adhérentes au fil et une placée en dehors.

(6) Le 16, on observe quelques colonies qui n'ont pas encore liquéfié la gélatine en entier, tandis que le fil d'un jour dans la solution de fluosilicate à 5 : 1000 a déjà presque tout liquéfié.

Cette expérience est très importante pour la chirurgie, car le *Staphylococcus citreus* est pyogène.

Nous arrivons maintenant au microbe pyogène par excellence ; au *Staphylococcus aureus* ou germe de l'ostéomyélite.

TABLEAU VIII. *Staphylococcus pyogenes aureus*
(fils desséchés pendant 24 heures et inoculés sur gélatine)

Durée de l'immers^{on}	Contrôle avec l'eau stérilisée	$HgCl^2$ 1 : 1000	HgI^2 1 : 1000	HgI^2 1 : 5000	$SiFl^6Na^2$ 1 : 1000	$SiFl^6Na^2$ 5 : 1000
1 m.	+ bcp	+ peu	+ peu	+	+ bcp	+ bcp
5 m.	+ bcp	+(16 col.)	+ quelq.-unes	+	+ bcp	+ bcp
15 m.	+ bcp	—	+ (1 col.)	+	+ bcp (4)	+ bcp
2 h.	+ bcp	— (1)	—	+ (2)	+ quelq.-unes	+ passabl.
1 jour	+ quelq.-unes	—	—	— (3)	+ (5)	+ (6)
3 jours	+ peu	—	—	—	—	—

(1) Tube infecté par une moisissure.
(2) » »
(3) » »
(3) » »
(4) » »
(5) » »
(6) » »

Ici le biiodure à 1 : 5000 montre que la dilution a bien diminué sa puissance désinfectante.

TABLEAU IX. *Staphylococcus aureus*
(fils inoculés sur la gélose (a)

Durée de l'immersion	Contrôle avec l'eau stérilisée	$HgCl^2$ 1 : 1000	HgI^3 1 : 1000	HgI^2 1 : 5000
1 m.	+ peu	—	—	+ peu
5 m.	+ peu	—	—	+ (1 colonie)
1 h.	+ (b)	—	—	—
12 h.	—	—	—	—

(a) Les fils desséchés à la température du laboratoire (20°) pendant 1 heure ont été trempés deux minutes dans l'alcool absolu avant d'être mis dans l'eau distillée de contrôle et dans les solutions antiseptiques.

(b) 2 petites colonies survenues seulement au bout de 6 jours d'étuve à 32°.
Les expériences avec le salufer ont été jugées inutiles.

§ II. Expériences sur la quantité de solution antiseptique nécessaire pour obtenir la stérilisation d'une quantité donnée de bouillon de culture.

Une dizaine de ballons d'Erlenmeyer, stérilisés et bouchés avec de la ouate stérilisée, renfermant du bouillon stérilisé et peptonisé, sont infectés avec les différents micro-organismes à étudier, et placés dans l'étuve à 32° pendant 48 heures; à côté d'eux se trouve, comme toujours, un ballon de contrôle.

On gradue ensuite des éprouvettes stérilisées avec un centimètre, et l'on marque ainsi au crayon à verre six divisions de deux centimètres.

On introduit dans une première éprouvette 2 cmc de bouillon infecté sur 10 cmc de $HgCl^2$ à 1 : 1000, puis
une 2me avec 4 cmc bouillon sur 8 cmc $HgCl^2$ à 1 : 1000
» 3me » 6 cmc » » 6 cmc » »
» 4me » 8 cmc » » 4 cmc » »
» 5me » 10 cmc » » 2 cmc » »

La même expérience est faite avec le HgI^2 à 1 : 1000 et le $SiFl^6Na^2$ à 5 : 1000.

De chacune des éprouvettes ainsi préparées, il est fait une inoculation avec l'anse de platine rougie préalablement, sur gélatine ou sur gélose, au bout d'une minute, d'une heure et de 24 heures.

I. *Expérience avec le Staphylococcus aureus* (Inoculé sur gélose)

		$HgCl^2$ 1 : 1000			HgI^2 1 : 1000			$SiFl^6Na^2$ 5 : 1000		
Bouillon	Solution antisept.	1 m.	1 h.	1 jour	1 m.	1 h.	1 jour	1 m.	1 h.	1 jour
2	10	+	+ (2)	—	+ (3)	—	—	Expérience pas faite, jugée inutile	+	+
4	8	+	+	—	+	+ (1)	—		+	+
6	6	+	+	—	+	+	—		+	+
8	4	+	+	—	+	+	—		+	+
10	2	+	+	—	+	+	+ (4)		+	+

(1) Ne se développe qu'au fond d'une piqûre.
(2) Ne se développe qu'au bout de quelques jours au fond d'une piqûre.
(3) Croît un peu plus tard.
(4) Croît le septième jour.

II. *Expérience avec le Bacillus pyocyaneus* (inoculé sur gélatine)

		$HgCl^2$ 1 : 1000			HgI^2 1 : 1000			$SiFl^6Na^2$ 5 : 1000		
Bouillon	Solution antisept.	1 m.	1 h.	1 jour	1 m.	1 h.	1 jour	1 m.	1 h.	1 jour
2	10	—	—	—	—	—	—	+	+	+ (8)
4	8	—	—	—	—	—	—	+	+	+
6	6	+ (4)	+	+ (6)	+ (3)	—	—	+	+	+
8	4	+ (5)	+	+ (7)	+ (2)	—	—	+	+	+
10	2	+	+	+	+ (1)	+	—	+	+	+

(1) + seulement après 6 jours, beaucoup de colonies encore petites.
(2) + seulement après 6 jours, quelques colonies.
(3) + 1 colonie, 6 jours après l'expérience.
(4) + (5) + (6) + donnent quelques colonies après 6 jours.
(7) + quelques colonies au bout de 6 jours.
(8) + 1 colonie au bout de 6 jours.

Les résultats n'ont pas changé deux semaines plus tard.

III. *Expérience avec le Bac. anthracis* (inoculé sur gélatine)

		$HgCl^2$ 1 : 1000			HgI^2 1 : 1000			$SiFl^6Na^2$ 5 : 1000		
Bouillon	Solution antisept.	1 m.	1 h.	1 jour	1 m.	1 h.	1 jour	1 m.	1 h.	1 jour
2	10	+ (7)	+	—	+ (1)	+ (5)	—	+	+	+ (6)
4	8	+	+ (9)	+	+	+ (5a)	+	+	+	+
6	6	+	+ (8c)	+	+	+ (4)	+	+	+	+
8	4	+	+ (8b)	+	+	+ (3)	+	+	+	+
10	2	+	+ (8a)	+	+	+ (2)	+	+	+	+

Examiné 2 jours après, tout est négatif.

(1) (2) 4 jours après l'inoculation, le tube a montré beaucoup de colonies.

(3) » » » » quelques colonies.

(4) » » » » quelques petites colonies.

Toute l'expérience Hg Cl^2 pendant 1 minute était encore négative au bout de 2 jours.

(5) + au bout de 6 jours. (6) + au bout de 6 jours. (7) + seulement quelques petites colonies après 6 jours.

(8) et (8a) + seulement au bout de 6 jours. (8b) et (8c) + une très petite colonie le 6e jour.

(9) + A l'aide de la loupe on voit une masse de colonies le long des piqûres 9 jours après l'inoculation.

Conclusions. — il résulte de ces expériences que le sublimé n'est nullement détrôné par d'autres antiseptiques ; le biiodure de mercure à concentration égale le suit, il est vrai, de près, surtout en ce qui concerne son action sur les microbes les moins résistants. La solution de biiodure est-elle diluée à 1 sur 5.000, son action désinfectante diminue d'une manière assez sensible.

Quant au fluosilicate de soude, son pouvoir désinfectant est presque nul, puisque sa solution aqueuse se charge de moisissures.

Miquel assure que les iodures sont des microbicides plus puissants que les chlorures correspondants, notre expérience tendrait plutôt à prouver le contraire. On ne peut songer à incriminer la quantité d'iodure de potas-

sium nécessaire pour dissoudre le biiodure, d'affaiblir la puissance antiseptique de ce dernier sel, car le sublimé, dissout à la faveur du chlorure de sodium, n'est modifié en rien dans sa valeur désinfectante, et, d'après Miquel, les sels potassiques auraient une puissance antiputride supérieure à celle des sels sodiques.

Le sublimé agit généralement plus rapidement que le biiodure de mercure, mais ce dernier agit sur les solutions septiques d'une manière presque plus avantageuse que lui.

L'alcool agit aussi en favorisant la pénétration de la solution antipseptique dans les fils infectés, de manière que la désinfection est plus rapide; l'alcool seul n'est nullement antiseptique, il immobilise les bactéries et leurs spores, mais ne les tue pas.

(A suivre).



REVUES ET ANALYSES[1]

Dangeard. — **Recherches sur les Cryptomonadinæ et les Euglenæ** (*Le Botaniste*, fasc. I, avec 1 pl.; Caen, septembre 1888).

Dans ce mémoire, qui fait suite à ses travaux antérieurs, M. Dangeard fait connaître les résultats de ses nouvelles recherches sur les Protozoaires dont la place, dans le règne animal, est mal définie. Il a étudié, à ce point de vue, les *Cryptomonadinæ* et les *Euglenæ*, et cite les faits qui lui paraissent concourir à n'en plus faire admettre l'animalité.

Au sujet de ces Protozoaires, considérés jusqu'ici comme des Flagellés à chlorophylle, M. Dangeard publie des observations fort intéressantes sur les *Cryptomonas erosa* et *ovata* Ehr. Il discute notamment l'opinion de M. Kunstler, qui les décrit en leur reconnaissant un tube digestif et un véritable estomac, alors que M. Bütschli ne leur accorde qu'un pharynx dans lequel il n'a pu constater l'introduction d'aliments solides. Pour M. Dangeard, cette cavité de la partie antérieure du corps, plus claire et limitée par des granules de protoplasma, est analogue à l'espace antérieur des *Chlamydomonas*; la nutrition est nettement végétale : il n'y a jamais introduction de substances solides à l'intérieur du protoplasma qui est coloré par de la chlorophylle ordinaire unie à un pigment violet insoluble dans l'alcool et l'éther. La reproduction se fait par division longitudinale libre, et il y a également formation de colonies palmelloïdes de 4-8-16 cellules enveloppées d'une couche épaisse de gélatine. La famille des *Cryptomonadinæ* lui semble, par suite, devoir être classée parmi les Algues inférieures : elle se détacherait des Flagellés par le *Chilomonas Paramecium*.

La deuxième famille étudiée par M. Dangeard, les *Euglenæ*, lui fournit des faits de même valeur. Il s'occupe du genre *Euglena*, et publie des observations détaillées sur les *Phacus Pleuronectes* Nitsch, *P. alata* et *parvula* Klebs, *P. Ovum* Ehr. Il reconnaît que les *Euglena* présentent parfois un petit canal antérieur très court,

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

qu'on a désigné comme un tube œsophagien; mais il ajoute que son existence n'est pas générale, et qu'il n'a nullement l'importance physiologique qu'on voudrait lui attribuer. M. Dangeard affirme que la nutrition a nettement le caractère végétal dans cette famille, car jamais aucune parcelle d'aliments solides ne pénètre à l'intérieur du corps, la chlorophylle suppléant à l'insuffisance de la digestion superficielle. Le résumé des caractères généraux de la famille est complétée par la description du point oculiforme, du cil vibratile, de la chlorophylle et des chromatophores, des corpuscules plasmiques de paramylon et du noyau, et par des détails sur la reproduction et l'enkystement. Cette famille des *Euglenæ* se rallierait, d'après l'auteur, par la base, aux Flagellés à digestion interne, comme les *Paranema,* par le groupe des *Astasiæ*, organismes sans chlorophylle qui ne peuvent vivre que dans des milieux chargés de matières organiques.

D'importantes conclusions terminent ce mémoire. Après avoir d'abord rappelé l'opinion de Brandt, qui lui semble très vraisemblable, que, dans les Protozoaires, la chlorophylle est localisée sur des corpuscules qui appartiennent à une Algue parasite, et avoir ensuite discuté la valeur de l'assertion de certains observateurs qui auraient observé, dans ce même cas, de la chlorophylle dissoute dans le protoplasma, M. Dangeard s'exprime ainsi : « Il nous paraît probable, jusqu'ici, que la chlorophylle n'appartient qu'au règne végétal; chez les champignons, elle est inutile, la digestion superficielle étant très active; elle est nécessaire chez la plupart des Algues, où cette digestion n'existe pas au même degré. A l'importance du mode de nutrition pour la distinction des végétaux et des animaux s'ajouterait donc un caractère de grande valeur, en ce qui concerne la distinction des Algues inférieures : la présence de la chlorophylle normale. »

Espérons que M. Dangeard ne tardera pas à appuyer, par des observations nouvelles, ces constatations physiologiques dont l'intérêt est de premier ordre.

E. R.

MAUPAS. — **Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés**. (*Arch. de Zoolog. expérimentale,* 2e série, t. VI, n° 2, p. 165-277, pl. IX-XII, 1888.)

M. Maupas, trouvant insuffisantes et peu scientifiques les recherches de ses devanciers sur la puissance de multiplication des Infusoires ciliés, a entrepris de jeter quelque clarté sur cette importante qnestion biologique. D'après lui, les principales causes

d'erreur des travaux antérieurs aux siens sont : le manque de nourriture auquel se trouvent soumis les Infusoires en expérience; le temps trop court pendant lequel ont duré les observations. L'auteur emploie dans ses recherches la méthode suivante : Il isole sur une lame de verre, recouverte d'une lamelle, un individu pris dans une culture bien prospère, il place cette lame dans une chambre humide très plate et offrant une grande surface d'évaporation, et nourrit l'individu avec du *Criptochilum nigricans* ou de la bouillie claire d'amidon, selon que cet individu appartient à une espèce carnivore ou non. Il note alors, jour par jour, le nombre de bipartitions successives qui se produisent, et, isolant de temps à autre un des individus provenant de l'individu primitif, il poursuit la culture jusqu'à épuisement de l'espèce. Ses expériences ont porté sur un assez grand nombre d'Infusoires ciliés. C'est ainsi qu'il a cultivé le *Slylovichia pustulata* pendant 4 mois, la *St. mytilus* pendant 9 mois, l'*Eoploates patella* pendant 20 jours, le *Stentor cœruleus* pendant 1 mois, le *Paramœcium caudatum* pendant 15 jours, le *P. aurelia* pendant plus de 2 mois, etc. Toutes ces espèces ont fini par s'éteindre en présentant des signes de dégénérescence, que l'auteur nomme sénescence, ou dégénérescence sénile. Les membranelles des Oxytrichides, les noyaux, présentent une atrophie plus ou moins complète. M. Maupas a, de plus, observé que, si l'on extrait d'une de ces cultures un individu quelconque et qu'on le mette en contact avec d'autres individus provenant d'une autre culture, il se produit une conjugaison qui confère aux individus issus des conjugués une nouvelle puissance de répartition, fait déjà noté depuis longtemps par M. Balbiani, mais que la conjugaison entre parents, provenant d'un individu commun, ne confère point à ceux-ci un nouveau pouvoir de répartition, n'arrête point leur sénescence.

Ce travail, qui représente une somme énorme de temps et de patience, nous paraît contenir, à côté de faits intéressants et bien observés, quelques conclusions un peu hâtives et dues, selon nous, à l'imperfection même de la méthode employée par M. Maupas. Ses observations sur les rapports de la température avec la puissance de multiplication de chaque espèce par 24 heures, sont très intéressantes. Son idée de nourrir les individus en observation est nouvelle, mais la question principale, celle de la sénescence, qui constitue le fonds même de ce travail, nous paraît avoir besoin d'être reprise avec des procédés plus rigoureux. M. Maupas enferme ses infusoires dans un milieu confiné, où l'air doit leur faire fatalement défaut, et l'on comprend difficilement comment 935 Stylonichies peuvent trouver les gaz nécessaires à

leur vie dans une masse d'eau — je cite le chiffre de l'auteur — de 100 millimètres cubes. Tous ceux qui ont observé les infusoires en captivité, savent avec quel empressement ceux-ci viennent se réunir contre les bords de la lamelle pour y chercher l'air respirable. En nourrissant des individus ainsi confinés, M. Maupas n'a-t-il point produit une multiplication cellulaire exagérée, analogue à l'hypertrophie que l'on peut observer dans certains organes, sous l'influence de conditions parfois bien connues ? Les individus résultant de cette multiplication hypertrophique pouvaient-ils rester normaux ? L'auteur nous paraît aussi avoir trop négligé l'influence des bactéries sur la vie des Infusoires. Il ne la méconnaît pourtant pas et, pour notre part, nous avons vu des cultures où vivaient certaines formes de ciliés déterminer la mort plus ou moins lente d'autres formes que nous y avions introduites. Or, l'infusion de foin, où vivent les *Criptochilum* destinés à la pâture des individus tenus en observation, pouvait très bien, à un moment donné, ne contenir que des bactéries inoffensives et, quelques jours plus tard, des bactéries nuisibles à la vie des individus observés.

Toutes ces raisons nous portent à penser que les conclusions de l'auteur, sur la sénescence normale des ciliés, demandent de nouvelles recherches. Cette réserve faite, nous nous empressons de reconnaître que son travail confirme pleinement les observations de ses devanciers, sur la régénération par conjugaison, et renferme beaucoup de faits qui, quelle qu'en soit l'interprétation actuellement donnée par l'auteur, n'en sont pas moins consciencieusement observés.

F. D.

A. Giard. — **Note sur deux types remarquables d'Entomophthorées**. *Empusa Fresenii* Now., et *Basidiobolus ranarum* Eid., suivie de la Description de quelques espèces nouvelles. (*Comptes rendus de la Soc. de Biologie*. Séance du 24 nov. 1888.)

La première partie de l'intéressante note de M. le professeur Giard est consacrée à l'étude du cycle biologique de deux espèces d'Entomophthorées, qui pourraient se rencontrer successivement dans le corps d'une mouche, la *Calliphora vomitoria*, et dans le tube digestif des lézards et des grenouilles. L'*Entomophthora calliphorœ*, infestant les mouches et les rendant moins aptes à fuir les attaques de leurs ennemis, passerait dans le tube digestif de ceux-ci et donnerait alors des spores durables, déterminées sous le nom de *Basidiobolus ranarum*. Cette opinion, émise par l'auteur avec

une certaine réserve, demande à être confirmée par des expériences directes de contamination.

Dans la deuxième partie, M. Giard signale brièvement quatre nouvelles formes d'Entomophthorées parasites. L'*Entomophthora saccharina*, qui infeste les chenilles d'*Euchelia Jacobeæ*. L'*E. Plusiæ*, qui vit sur celles de la *Plusia gamma*. Le *Metarhizum Chrysorrheæ*, rencontré sur des chenilles de *Liparis Chrisorrheæ* au Jardin d'acclimatation, et enfin, le *Metarhizum? Leptophyei*, parasite d'un Orthoptère *Leptophyes punctatissima* Bosc. trouvé dans le bois de Meudon.

F. D.

Dr O. Zacharias. — **Pseudopodes et Flagellums** (*Biologischer Centralblatt*, Bd VIII, 15 novembre 1888, n° 18, p. 548).

Cette note est une réclamation de priorité contre M. le professeur Gruber, au sujet du mouvement vibratile de certains pseudopodes. Dans son travail sur quelques rhizopodes du golfe de Gênes, travail que nous avons analysé dans un des précédents numéros de ces Annales, M. le Dr Gruber a écrit : « Jusqu'à présent, l'on ne connaissait point de Pseudopodes se comportant comme des cils vibratiles. » Or, le Dr. Zacharias aurait signalé ce fait dès 1884, sur des spermatozoïdes de *Polyphemus pediculus* qui, dans une solution de sel marin à 3 $^0/_0$, s'entourent de minces filaments vibratiles de protoplasma.

Nous nous permettrons de faire remarquer à ce sujet que, dès l'année 1835, Dujardin (*Ann. des Sc. nat.*, IV, p. 348, 361) avait fait la même observation; qu'en 1870, Hæckel (*Biolog. studien*, P I, p. 127) avait émis une semblable opinion sans tenir compte de celle de Dujardin et que son erreur fut relevée en 1872 dans une analyse publiée dans les *Archives de Zoologie expérimentale*, p. LIII, notes.

La réclamation du Dr Zacharias porte donc sur la constatation d'un fait connu.

F. D.

Frank E. Beddard. — **Remarques sur une espèce de Coccidie, parasite des** *Perichæta* (*Annals and Magazine of Natural history Sixth series*, vol. II, n° 12, décembre 1888, p. 433-439, pl. xv).

L'on ne connaissait jusqu'ici que les Coccidies des vertébrés des myriopodes, des turtellariés et des mollusques. Il convient

d'ajouter aujourd'hui à cette liste les vers terrestres du genre *Perichœta*. M. Beddard a rencontré dans deux espèces de ce genre, le *P. Novæ-Zelandiæ* et le *P. armata,* toutes deux vivant à Bornéo, une et peut-être deux formes de Coccidies. Ces sporozoaires se rencontrent dans la cavité périviscérale des vers et, bien que l'auteur n'ait eu à sa disposition que des matériaux conservés dans l'alcool, il a pu en faire l'histoire et en suivre le développement.

Les Coccidies des *Perichœta* ont tantôt la forme ovoïde caractéristique des espèces de ce groupe, tantôt présentent des extrémités tronquées. Elles sont enveloppées d'un kyste à parois le plus souvent doubles, et portent à l'une de leurs extrémités un micropyle. Ce micropyle n'est point situé exactement à l'un des pôles, comme dans le Coccidium oviforme, mais souvent rejeté latéralement. L'auteur n'a jamais observé de rapports entre lui et le contenu de la cellule.

Au fur et à mesure que s'effectue le développement, la membrane la plus externe grandit et finit par former aux deux extrémités de l'individu de larges expansions.

La reproduction s'effectue par la division du contenu protoplasmique de la Coccidie en un grand nombre de sporoblastes, caractère qui démontre bien l'affinité qui existe entre les Coccididæ et les Monocystidæ.

L'auteur nomme cette espèce *Coccidium Perichœtæ.*

F. D.

K. Mœbius. — **Fragments d'une Faune des Infusoires de la baie de Kiel** (*Archiv für Naturgeschichte,* 1888, I, p. 81-116, pl. iv-x.)

Dans ce travail, M. le professeur Mœbius étudie un certain nombre d'Infusoires ciliés, flagellés et tentaculifères, dont les uns, déjà connus, avaient été peu étudiés au point de vue des détails d'organisation, et dont les autres, absolument nouveaux, sont l'objet d'une diagnose spéciale. Parmi les premiers, nous signalerons l'*Euplotes harpa* Stein au sujet de laquelle l'auteur a fait d'intéressantes observations. Cette forme d'Infusoire cilié hypotriche aurait, d'après lui, deux modes de multiplication : la fissiparité et le bourgeonnement. Le premier phénomène qui annonce que l'Infusoire va se fissiparer est l'apparition d'une petite zone ciliaire en dedans du peristome, zone ciliaire qui est destinée à donner plus tard naissance au peristome du nouvel individu, et que Stein et Sterki avaient prise pour une rangée de cils préoraux. Pendant la division, le noyau est le siège de modi-

fications intéressant à la fois, et sa forme, et sa texture, que l'auteur a mises en évidence au moyen de la safranine. Le deuxième mode de multiplication est de beaucoup le plus curieux, car il a été jusqu'ici très rarement observé chez les ciliés. L'individu se ramasse sur lui-même, et se roule en boule, sa vésicule contractile s'accroît beaucoup, et les membranelles buccales cessent d'être visibles. Le corps s'entoure d'un kyste. La vésicule contractile se divise en un grand nombre de petites vésicules, tandis que le plasma se remplit de corpuscules réfringents. Bientôt au niveau de la zone des membranelles apparaît un bourgeon qui s'isole peu à peu, entraînant dans sa masse quelques-unes des vésicules contractiles. Ce bourgeon grossit et se transforme en une Euplote qui se sépare de l'Individu mère et rentre dans la vie active. Le phénomène dure environ deux heures et demie.

Parmi les Hypotriches, signalons trois nouvelles espèces de *Stichotricha: gracilis, saginata* et *horrida.* Parmi les Hétérotriches le *Chilodon crebricostatus,* le *Porpostoma notatum.* Parmi les Péritriches, le *Rhabdostyla commensalis.* Parmi les Holotriches, l'*Hoplitophrya fastigata.* Les *Cilio-flagellés* comptent une nouvelle espèce, le *Trichonema gracile.* Les *Choano-flagellés* ont fourni le *Salpingœca procera* et le *Monosiga sinuosa.* Enfin les *Flagellés,* l'*Urceolus ovatus,* l'*Anisonema multicostatum* et le *Diplomastix dahlii.*

F. D.

Dr J. D. Robertson. — **Extrait du discours présidentiel prononcé à la Faculté médicale de Penrith, sur l'Etude des Micro-organismes de l'air, en particulier de l'air des égouts, et sur une nouvelle méthode pour les cultiver.** (*British. Medical Journal,* 15 déc. 1888.)

Après avoir rapidement fait l'historique de la question, le Dr Robertson aborde la description de son procédé, qui est, dit-il, une modification de celui du Dr Frankland. Ce dernier faisait passer une certaine quantité d'air à travers un filtre stérilisé formé de verre pilé, retenu dans un tube par deux bourres de laine de verre. Il faisait ensuite tomber ce filtre dans un volume donné d'eau stérilisée et se servait de cette eau pour ensemencer des ballons, ou bien il recevait directement le filtre dans un récipient de 300 à 400 c. cubes contenant de la gélatine-peptone. Le Dr Robertson, trouvant des inconvénients à cette méthode, préfère effectuer avec la gélatine ainsi ensemencée des cultures sur plaque. Il trouve que la division et la répartition des germes est ainsi plus complète.

L'auteur rapporte quinze expériences faites sur l'air d'égout de la ville de Penrith et dix sur l'air libre de la même ville. Il ressort de ces expériences que l'air des égouts, contrairement à l'assertion de la plupart des bactériologistes, serait presqu'aussi riche en microorganismes que l'air libre. Ce dernier contiendrait en moyenne 5,7 organismes par litre, tandis que l'air d'égout en contiendrait 4,2. Il est vrai que les égouts de la ville de Penrith sont soumis à des crues considérables pendant la saison des pluies, ce qui explique la dissémination des germes pendant la période de sécheresse. L'auteur a aussi observé que l'air des égouts est d'autant plus pur, que ceux-ci se trouvent à un niveau plus élevé; d'où il conclut que les habitations situées dans les lieux les plus élevés pourraient bien n'être pas les plus saines, car la ventilation des égouts se ferait justement par les conduites des eaux de ces habitations.

F. D.

E. Roux et A. Yersin. — **Contribution à l'étude de la diphtérie** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, page 629).

Le bacille de la diphtérie découvert par Klebs en 1883, plus tard étudié avec soin par Lœffler et G. Hoffmann, a fait de la part de MM. Roux et Yersin l'objet d'un travail remarquable que nous allons analyser.

Ce bacille présent dans la zône la plus superficielle des fausses membranes diphtériques, où il se trouve suivant les cas plus ou moins mélangé à une foule de microorganismes vulgaires, sont petits, immobiles et facilement isolables à l'état de pureté au moyen du procédé des stries du Dr Koch pratiqué au fil de platine, sur du sérum de sang coagulé ou de la gélose nutritive. Cet organisme microscopique croît abondamment dans les bouillons de viande légèrement alcalinisés auxquels il communique bientôt un certain degré d'acidité, qui est plus tard remplacé par de l'alcalinité quand on conserve la culture au contact de l'oxygène atmosphérique. Comme bon nombre de microbes, le bacille de la diphtérie vient former sur la paroi des vases de bouillon où on le cultive des dépôts adhérents. Cet organisme peut se multiplier dans le vide, où il donne cependant des cultures moins fournies. Le meilleur moyen de conserver au bacille son activité consiste à garder ses cultures dans des vases scellés.

L'action du bacille de la diphtérie sur les animaux a fait, de la part du Dr Lœffler, l'objet de recherches très consciencieuses et

très exactes; MM. Roux et Yersin ont repris et très habilement complété ces recherches; ils ont successivement inoculé ce bacille sur les muqueuses, sous la peau des pigeons, des lapins, des cobayes, qui sont morts rapidement en présentant les lésions anatomo-pathologiques de l'empoisonnement diphtéritique dans le détail desquelles nous n'avons pas à nous étendre ici. Mais plus heureux que M. Lœffler, ces savants ont pu tuer sûrement les lapins en injectant les cultures du bacille dans le sang de ces animaux; avec M. Lœffler, ils ont constaté que les organes des animaux atteints de dyphtérie présentent rarement le microbe qui l'engendre.

Il appartient également à MM. Roux et Yersin d'avoir nettement établi que la diphtérie expérimentale produit des paralysies chez les mammifères et chez les ovipares. Ce caractère important de cette affection n'avait pu être mis en évidence par M. Lœffler. Le doute qui pouvait exister sur la spécificité réelle du bacille de Klebs a aujourd'hui disparu, grâce aux observations des auteurs du mémoire dont nous nous efforçons de faire ressortir les points les plus saillants.

Nous arrivons à la partie la plus originale et la plus intéressante du travail de MM. Roux et Yersin. Il était difficile de concevoir qu'une affection semblable à la diphtérie, dont les lésions sont locales et très circonscrites, put déterminer un ensemble de phénomènes généraux intenses et parfois une mort foudroyante. Depuis quelques années l'attention est fortement attirée sur le mode d'action des microorganismes. Pour plusieurs d'entre eux cette action paraît liée à la sécrétion de virus ou de poisons organiques, que la circulation entraînerait au fur et à mesure de leur production dans l'économie animale où ils agiraient à la manière des poisons chimiques ingérés ou introduits hypodermiquement.

Le bacille de la diphtérie semble devoir être rangé dans cette dernière catégorie de microbes; le plus souvent il se cantonne sur les muqueuses laryngo-pharyngiennes, et l'on sait qu'il peut tuer bien avant que les pseudo-membranes croupales aient apparu sur le larynx et soient devenues un obstacle mécanique à la respiration. Ce poison, pour l'explication rationnelle de l'angine diphtérique, il fallait le trouver, l'isoler, mesurer sa force, prouver son action malfaisante; c'est un des grands mérites de MM. Roux et Yersin d'avoir démontré son existence, et son extrême virulence.

Pour isoler cette substance vénéneuse, il suffit de filtrer à travers la porcelaine une culture du bacille de la diphtérie vieille de 7 à 8 jours. La toxicité du liquide ainsi obtenu est relativement faible, on doit en injecter 35 cmc environ dans la cavité péritonéale

d'un lapin pour mettre ses jours en danger. Mais les cultures anciennes sont incomparablement plus riches en virus, et celles qui datent d'une quarantaine de jours tuent à la même dose les lapins en 6 heures. D'ailleurs, il est aisé d'augmenter la virulence de ces liquides filtrés en les concentrant dans le vide. Dans ce cas, leur action devient foudroyante sous le volume de quelques centimètres cubes pour les lapins, les cobayes, et même pour les souris et les rats qui sont très réfractaires au poison diphtéritique.

Les animaux intoxiqués par les inoculations du virus soluble de la diphtérie offrent les mêmes lésions anatomiques et s'accompagnent des mêmes phénomènes paralytiques que détermine la dyphtérie causée par les bacilles, avec cette différence qu'aux points d'inoculation on ne découvre au sein des tissus enflammés aucune fausse membrane, ni aucun bacille.

MM. Roux et Yersin n'ont pu encore isoler à l'état de corps chimiquement pur le virus soluble de la diphtérie, ils savent seulement que la chaleur de 100° maintenue pendant 10 minutes détruit son action nocive, et ils sont portés à croire qu'il est de nature alcaloïdique ou diastasique. Souhaitons qu'il s'agisse seulement d'un alcaloïde et non d'une diastase qui pourrait agir à dose infinitésimale, et échapper comme la plupart de celles que nous connaissons à l'action des antiseptiques.

MM. Roux et Yersin complèteront, nous en sommes persuadé, leurs belles recherches, en étudiant les agents qui sont capables de neutraliser le virus diphtéritique et de détruire sur place le bacille qui le sécrète. Ces savants, qui ont déjà tant mérité de la Science, acquerront alors un titre impérissable à la reconnaissance de l'Humanité.

D^r M.

S. Arloing. — **Contribution à l'étude de la résistance de l'organisme aux microbes pathogènes, notamment des rapports de la nécrobiose avec les effets de certains microbes** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CVII, page 1167).

Le Directeur de l'Ecole vétérinaire de Lyon étudie, dans un cas nettement défini, l'action d'un microbe spécial sur les tissus à l'état sain et en voie de nécrobiose. L'organisme inoculé par M. S. Arloing, dans ses expériences, est un bacille aérobie et anaérobie présentant un polymorphisme curieux consistant surtout dans les variations qu'offrent ses dimensions longitudinales. Ce bacille, très court dans ses cultures sur la gélatine, se montre en articles épais et presque ovoïdes dans les conserves de bouillons laissées

au contact de l'air, et au contraire en bâtonnets de 8 à 20 μ dans le bouillon soustrait à l'oxygène atmosphérique par une atmosphère artificielle de gaz acide carbonique. Cet être filamenteux inoculé aux animaux de petite et de forte taille (cobayes, lapins, moutons) ne produit aucun trouble morbide appréciable; mais si on l'injecte dans un organe depuis peu de temps en voie de mortification, tel que le testicule d'un bélier récemment soumis à l'émasculation par torsion, il provoque des désordres graves et même la mort. Les testicules sains et les testicules bistournés depuis quelques semaines ne subissent pas les atteintes de ce microbe auquel M. Arloing propose de donner, pour ce motif, le nom de *Bacillus heminecrobiophilus*. Enfin, ce savant termine son intéressante communication à l'Institut en faisant ressortir : 1° que pour certains microbes les effets dépendent de l'état des tissus qu'ils rencontrent; 2° que l'on est exposé à déclarer inoffensifs des microbes que l'on ne sait pas placer dans les conditions requises pour qu'ils produisent leur action pathogène ; 3° que l'on ne saurait être trop prudent lorsqu'on doit se prononcer sur les propriétés d'un microbe donné.

Ces vues sont d'une excessive justesse, car il n'est pas de médecin praticien qui n'ait eu plusieurs fois la triste occasion de constater la marche soudaine et terrible avec laquelle évoluent certaines phlegmasies chez les personnes atteintes d'une tare constitutionnelle apparente ou cachée, alors que ces mêmes phlegmasies ont un retentissement insignifiant sur les sujets en bon état de santé.

Dr M.

A. Fernbach. — **De l'absence des microbes dans les tissus végétaux** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, page 567).

En réponse aux affirmations du Dr Galippe, qui prétend que les microbes du sol pénètrent dans l'intérieur des végétaux *(Journal des connaissances médicales,* juin 1887), M. Fernbach expose un nombre considérable d'expériences desquelles il ressort que, sur 555 ensemencements effectués avec de la pulpe de tomates, de navets, de carottes, de pommes de terre, dans des liquides altérables, on observe seulement 35 ensemencements féconds, soit à peu près 7 %. De même que M. Laurent, qui a fait antérieurement (1885) de semblables essais, M. Fernbach est amené à conclure que les tissus végétaux sains ne renferment pas habituellement des bactéries.

Il est toujours désagréable de faire valoir des droits de priorité et, dans le cas qui nous occupe, je m'en serais bien volontiers dis-

pensé, si les auteurs que je viens de citer avaient dit quelque part un simple mot de mes recherches sur le même sujet. Je me permettrai donc d'attirer leur attention sur les quelques phrases suivantes écrites en 1883 (*Les organismes vivants de l'atmosphère,* pages 168 et 169) :

« Je dois dire un mot d'un procédé susceptible de fournir des infusions et des macérations stériles sans avoir recours à la filtration et à la chaleur ; il consiste à introduire dans de l'eau privée d'organismes vivants, soit de la chair musculaire enlevée à un animal sain quelques minutes après sa mort, soit les parties charnues des fruits, des légumes verts ou tendres, des carottes, des raves, des navets, des pommes de terre, prélevées, comme je l'ai fait avec le secours d'emporte-pièces flambés dont on vide le contenu dans des matras ou des ballons d'eau stérilisée qu'on peut ensuite abandonner ouverts sur un plateau de verre dressé, recouvert d'une cloche rodée (fig. 61). »

« Ces expériences sont souvent contradictoires..... avec un peu d'habitude on arrive cependant à obtenir un nombre de succès vraiment remarquable (95 sur 100) ; pour cela, il faut opérer en plein air, après un temps pluvieux, loin de toute habitation et éviter d'introduire soi-même par maladresse les germes qu'on veut écarter. »

Je félicite donc M. Fernbach d'être arrivé, par les mêmes moyens, aux résultats que j'ai publiés il y a six années. J'ajouterai que tous les végétaux sur lesquels j'ai opéré en 1881-1882 m'étaient envoyés pour l'entretien de mes lapins et de mes cobayes du jardin de la ville de Paris, à Gennevilliers, uniquement arrosé avec de l'eau d'égout.

Le parenchyme des végétaux sains ne renferme donc pas ordinairement des bactéries et, si un expérimentateur aussi habile que le Dr Galippe est arrivé à des résultats différents, c'est vraisemblablement par la raison qu'il a eu à sa disposition des fruits peut-être vieux, ou peut-être lésés dans quelque partie de leur surface. Quoiqu'il en soit, comme le fait remarquer M. Di Vestea (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, page 670), on pourra se soustraire aux microbes qui ont accidentellement envahi les tissus des végétaux en soumettant ces végétaux à la cuisson. Plusieurs d'entre eux, cependant, ne sont pas toujours mangés cuits (radis, salades, etc.) et alors, quoi qu'on fasse, ils seront ingérés avec les microbes qu'ils apporteront du terrain où ils ont poussé, répandus soit à leur surface, soit dans leur pulpe attaquée par les insectes, les bactéries, et les moisissures.

Dr M.

MM. Cadéac et Mallet. — **Recherches expérimentales sur la virulence des matières tuberculeuses desséchées, putréfiées ou congelées.** (*Revue vétérinaire*, janvier 1889.)

Ainsi qu'ils l'avaient fait précédemment pour la morve, ces auteurs recherchent, dans ce nouveau travail, à déterminer le degré de résistance que peuvent opposer les matières tuberculeuses à la dessication, à la putréfaction et à la congélation. Pour étudier leur résistance à la dessication, ils séchaient de très petits morceaux de poumon d'une vache tuberculeuse, les passaient au moulin à poivre, enfermaient les poussières dans des flacons et les inoculaient à des animaux (cobayes et lapins) après un temps variable. Ces poussières furent trouvées virulentes encore après 102 jours. Passé ce temps, elles se montraient inoffensives; cependant, quand on dessèche de gros morceaux, sans les réduire en poussière, la virulence persiste jusqu'à 150 jours.

La putréfaction à l'air libre semble amener la perte de la virulence plus rapidement qu'à la suite de l'enfouissement. Ainsi, des morceaux de poumon tuberculeux, enfouis dans un jardin, se montrèrent virulents encore après 167 jours (au delà de cette date, les animaux inoculés moururent constamment de septicémie, de telle sorte qu'il reste incertain si la virulence était définitivement éteinte après un enfouissement de 167 jours), tandis qu'abandonnés à la putréfaction dans de l'eau, la virulence paraît ne pas dépasser la limite de 120 jours.

La congélation, à la température de 1-8° au-dessous de zéro, et prolongée pendant plus d'une semaine, fut sans effet sur cette virulence.

E. F.

Dr A. Lustig. — **Les microorganismes des moules** *mytilus edulis*. (*Archivio per le Scienze mediche*, XII, p. 17).

On sait que les moules déterminent quelquefois, après leur ingestion, tous les symptômes d'une sorte d'empoisonnement. Il n'y a pas longtemps, en 1885, un cas de ce genre est survenu à Wilhemshaven, causant un empoisonnement en masse de la population ouvrière de cette ville. Les symptômes rentraient, d'après M. Virchow, dans le cadre nosologique de l'entérite, et il résulte des recherches faites alors par M. Schmidtmann que ces phénomènes morbides sont dus à une maladie des moules, provoquée par leur séjour dans les eaux stagnantes des ports. M. Brieger a

même réussi à extraire des moules incriminées une toxine excessivement violente à laquelle il a donné le nom de mytilotoxine, ptomaine que l'on ne retrouve pas dans d'autres mollusques, même quand on les laisse se putréfier.

Quelle est la cause de cette maladie des moules? Et serait-elle peut-être de nature bactérienne? MM. Grawitz et Wolf n'ont réussi à isoler des moules qu'un microbe dépourvu de qualités pathogènes. M. Lindner, de son côté, a constaté, chez les moules malades, la présence d'un nombre considérable de protozoaires, sans apporter toutefois de preuves en faveur de l'hypothèse que ceux-ci seraient la cause de la maladie du mollusque.

M. Lustig a obtenu un résultat plus positif, car il a trouvé dans le foie de molusques qu'il avait recueillis dans l'eau stagnante des ports de Gênes et de Trieste, et qui présentaient tous les caractères des espèces vénéneuses — leur ingestion causait la mort, en 12 à 24 heures, des animaux d'expériences, — deux microorganidifférents, l'un inoffensif, l'autre pathogène. Le premier est un bacille long de 0,8-1,0, immobile, se colorant facilement et croissant bien dans la gélatine qu'il ne liquéfie pas. L'autre microbe est également un bacille droit, et de mêmes dimensions que le précédent, mais il est mobile. Il se colore aussi, d'après la méthode de Gram. Il fluidifie la gélatine dans laquelle il forme des colonies en entonnoir. Inoculé par piqûre dans un tube de gélatine, il produit au bout de 12 heures une bulle d'air à la surface, audessous de laquelle se forme un entonnoir après 24 heures. Sa liquéfaction est totale au bout de 8 jours. Il croît également bien, même à la température de la chambre, sur la gélose, les pommes de terre, le sérum de sang, dans le lait et le bouillon, et communique une odeur nauséabonde aux cultures.

Inoculé par la voie sous-cutanée (15-20 de gouttes de culture), ou injecté dans les veines, ce bacille se montre absolument inoffensif; par contre, introduit par la voie stomacale (l'auteur faisait manger aux animaux d'expériences, lapins et cobayes, de petits morceaux de pommes de terre infectées par ce bacille), il provoqua, au bout de 12 heures à 2 jours, la mort de tous les lapins mis en expérience et de 2 cobayes sur 4. Le principal symptôme est une diarrhée profuse; à l'autopsie, on retrouve le bacille dans le sang du cœur et dans le contenu intestinal. Le foie et la rate sont hyperhémiés, la muqueuse du jéjunum et de l'iléon est fortement injectée, tuméfiée et recouverte de mucus. Les glandes mésentériques sont aussi tuméfiées. En injectant les cultures dans le péritoine (une goutte de culture diluée dans du bouillon), on obtient également la mort des animaux. Les bacilles que l'on cultive du sang et du contenu

intestinal produisent les mêmes effets; il est à note cependn t que les cultures, qu'elles proviennent du foie des moules vénéneuses ou du sang des animaux inoculés, perdent leur virulence déjà au bout de six jours. Dans les moules saines recueillies dans des eaux pures et non stagnantes, l'auteur ne trouva jamais ce bacille. M. Lustig conclut de ses recherches que les moules vénéneuses hébergent régulièrement un microorganisme pathogène, produisant chez les animaux auxquels il l'a inoculé tous les symptômes d'une entérite; il est, par contre, plus réservé quant à la question de savoir si c'est ce même bacille qui est la cause de l'empoisonnement observé chez les individus qui ont ingéré les moules malades; c'est là un point qui ne pourra être décidé que quand on aura eu l'occasion de soumettre à un examen bactériologique au moins le sang et les vomissements des personnes atteintes. Une réserve prudente est d'autant plus indiquée que, ainsi que M. Lustig le remarque lui-même, la diarrhée, signe distinctif de l'infection chez l'animal, manque d'habitude chez l'homme. Il semble aussi, puisque le bacille se retrouve dans le sang des animaux inoculés par la voie stomacale, que ce milieu lui est propice. Comment s'expliquer alors qu'injecté dans les veines il se montre absolument inoffensif ?

E. F.

G. Firtsch. — **Recherches sur les variations de forme du *Vibrio proteus*** (bacille-virgule de Finkler-Prior). *Archiv für Hygiene*, VIII, 4, p. 369.

En faisant des cultures sur plaque d'une culture de *Vibrio proteus* (bacille-virgule de Finkler-Prior) vieille de 307 jours, M. le profr Gruber trouva au milieu des colonies typiques de ce microorganisme quelques colonies d'une espèce de bactéries liquéfiant la gélatine moins rapidement, et ayant l'apparence d'être dues à une infection fortuite. Comme elles avaient une grande analogie avec celles du bacille du choléra de Koch, M. Gruber chargea M. Firtsch de les étudier. Celui-ci constata, en effet, des différences nettement marquées entre ces colonies et celle du *Vibrio proteus*. Ainsi, pour citer un exemple, tandis que celles-ci ont, au bout de 24 heures, des contours ronds et nets, les autres en ont d'ondulés. M. Firtsch examina alors d'autres vieilles cultures de 375 et 365 jours de *Vibrio proteus*, dont la pureté était absolument certaine. La même variété s'y retrouva avec une telle régularité que l'auteur présuma qu'il y avait là, non pas une infection fortuite des cultures, mais une variation de formes en connexion

avec leur âge. Pour arriver à vérifier cette hypothèse, M. Firtsch fit une série de cultures par piqûre, en se servant pour inoculer les tubes, de colonies pures et tout à fait typiques du *Vibrio proteus* issues de cultures sur plaques, et on fit, à intervalles divers, des cultures sur plaques. Le résultat fut assez surprenant : Tandis que toutes les plaques faites avec les cultures âgées de 2 à 3 semaines ne donnaient que les colonies typiques du *Vibrio proteus,* celles provenant de cultures plus âgées renfermaient, en outre, une espèce nouvelle, différant tant du *Vibrio proteus* que du vibrion trouvé par M. Gruber, et à laquelle M. Firtsch donna le nom de vibrion I. Ses colonies sont, au bout de 48 heures, mamelonnées, et ont des contours irréguliers ; à part la différence d'aspect des colonies, cette bactérie est, à tous autres égards, presque identique avec le proteus typique. Dans la première plaque où il la trouva — elle provenait d'une culture âgée de 54 jours, — M. Firtsch constata également la présence de quelques colonies de l'espèce découverte par M. Gruber et qu'il appelle, dans la suite, vibrion II ; mais en général, ce dernier apparaît surtout dans les plaques faites avec des cultures plus âgées ; les colonies du vibrion I cessent alors de se montrer. Une infection fortuite étant hors de cause, il semblerait donc, d'après M. Firtsch, qu'il se forme, avec l'âge, dans les cultures de *Vibrio proteus*, des variétés diverses. L'une, le vibrion I, apparaîtrait au bout de quelques semaines et ne s'éloignerait que peu, dans ses caractères microscopiques, de la forme type ; elle serait aussi moins fixe, car, en la cultivant, elle perd bientôt ses caractères et retombe dans le type ordinaire. La seconde n'apparaîtrait qu'au bout d'un temps plus long, mais serait aussi plus fixe, car jamais M. Firtsch n'a réussi à la faire revenir à la forme primitive. Par ses caractères microscopiques, elle s'écarte aussi beaucoup plus de la forme type que le vibrion I. Ce qui semblerait confirmer cette hypothèse d'une variété de forme, c'est que dans des cultures encore plus vieilles (plus d'un an), M. Firtsch trouva une troisième variété, le vibrion III. Cette variété semble se former à une période où les cultures sont près de périr, car les plaques faites à ce moment ne contiennent plus que peu de colonies. Ce vibrion III est en conséquence peu vivace. Sa croissance est très retardée, et la liquéfaction de la gélatine se fait lentement. De plus, examiné au microscope, ce microorganisme accuse de notables différences de forme, et des trois vibrions étudiés par M. Firtsch, c'est bien celui qui s'écarte le plus du *Vibrio proteus*. Notons encore que l'auteur a vu dans les cultures de ce vibrion III se former, au bout de 3 × 24 heures, des formes involutives ressemblant aux corpuscules décrits par M. Ferran pour le bacille du choléra.

Si les recherches de M. Firtsch devaient se confirmer et s'étendre à d'autres bactéries, il en résulterait que l'aspect macroscopique des cultures ne pourrait plus dorénavant servir de critérium absolu, procédé dont M. Hueppe avait, du reste, déjà montré le danger.

Les observations de M. Firtsch contribueront donc, il faut l'espérer, à engager les expérimentateurs trop enclins à s'en tenir, pour la détermination des variétés, à des indices purement extérieurs, tels que la forme des colonies, à se livrer à une étude plus approfondie des qualités biologiques des microorganismes soumis à leur examen.

E. F.

Dr Otto Roth. — **De la perméabilité des muqueuses et de la peau pour les bactéries** (*Zeitschrift für Hygiene*, IV, 1, p. 151).

A l'occasion d'une épidémie sévissant parmi des lapins, Ribbert avait isolé un bacille auquel il donna le nom de bacille de la diphtérite de l'intestin des lapins. Au cours des expériences qu'il fit, il avait remarqué qu'en injectant une émulsion de ce bacille dans la bouche, les animaux périssaient généralement, avec tuméfaction des glandes du cou, et que l'on retrouvait les bacilles dans le tissu des amygdales. Il en conclut que celles-ci avaient servi de passage au moins à une partie des bacilles, et il essaya alors de produire une infection de ses lapins en badigeonnant leur langue avec les bacilles. L'expérience ne réussit toutefois que dans les cas où il avait préalablement lésé le revêtement épithélial de cet organe. Se basant sur ces faits, il avait admis que la muqueuse buccale n'est perméable pour les bactéries que là où son tissu est normalement plus lâche, comme celui des amygdales.

Le Dr Otto Roth a repris et étendu ces expériences.

Une première série d'expériences fut destinée à élucider la question de la perméabilité de la muqueuse, là où son tissu est absolument normal. L'auteur se servit, dans ce but, du même bacille que Ribbert. Transporté, au moyen d'un pinceau mou, sur la muqueuse du pharynx de trois lapins, il resta sans effet. Introduit, par contre, dans la cavité nasale, il produisit la mort de deux souris et de deux cobayes, dans un espace de temps variant de 6 à 13 jours. Deux autres cobayes et un lapin furent malades (conjonctivite, sécrétion purulente de la muqueuse nasale), mais se remirent. Dans les cas suivis de mort, le bacille se retrouva dans les organes.

Après avoir ainsi réussi à introduire le bacille de Ribbert dans

l'organisme de l'animal, par la voie de la muqueuse nasale intacte, le Dr Roth étudia, dans une seconde série d'expériences, la perméabilité de la peau pour différentes espèces de microbes. Garré l'ayant déjà établie par les expériences qu'il avait faites sur lui-même, pour le *Staphylococcus aureus* (frictions avec des cultures suivies d'une éruption de furoncles), il expérimenta avec le même bacille de Ribbert, avec le bacille de la septicémie des souris et avec le bacille du charbon. Pour mieux faire pénétrer les cultures, on les incorpora à de la lanoline, de l'axonge et de l'huile d'olive. D'autres fois, elles furent employées sans véhicule aucun. Les frictions furent faites avec la main, protégée par un gant de caoutchouc.

Des six animaux ainsi soumis à des frictions avec le bacille de Ribbert, quatre furent malades. L'un d'eux mourut le 23e jour, les 3 autres furent tués le 32e et 41e jour. Tous les quatre présentaient les symptômes indiqués par Ribbert. Les organes contenaient les bacilles ainsi que l'on s'en assura par des cultures et par des coupes.

Des deux souris auxquelles l'auteur chercha à donner la septicémie des souris par des frictions, une succomba; ses organes contenaient une grande quantité de bacilles de la septicémie.

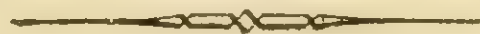
La plupart des animaux, inoculés de cette façon avec le bacille du charbon, périrent du charbon.

Il résulta, en outre, de ces expériences :

1° Que l'incorporation des cultures à un corps gras semble favoriser leur résorption. Il n'y a pas, au contraire, de différence à cet égard, entre les différents corps gras employés par l'auteur.

2° La friction doit être assez énergique pour que la pénétration ait lieu. Comme on aurait pu conclure de ce fait que, dans les cas suivis d'absorption, les frictions avaient produit une lésion de la peau passée inaperçue, le Dr Roth eut soin de pratiquer des coupes de la peau aux endroits frictionnés. L'épiderme était toujours restée intacte. Il serait ainsi prouvé que la peau intacte, bien qu'opposant une résistance considérable, peut être traversée par les microorganismes. Il eut été intéressant, ainsi que l'auteur le dit lui-même, de sacrifier les animaux d'expériences à différents intervalles, et d'observer sur des coupes le chemin suivi par les bactéries, mais le temps lui a malheureusement manqué pour le faire.

E. F.



BIBLIOGRAPHIE

Dr E. Van Ermengem. — **Manuel technique de Microbiologie**, un volume in-16°, 475 pages, avec 76 fig. et 2 pl. en chromolithographie. Paris, C. Steinheil, édit.

Comme le dit avec justesse M. Van Ermengem, dans l'introduction de son ouvrage, la littérature française ne possède pas un traité spécialement consacré aux méthodes générales d'investigation relatives à la bactériologie. Nous avons, il est vrai, en France le volume très estimé de MM. Cornil et Babés, les traductions des livres de nos collaborateurs, les Drs Klein et Crookshank, mais ces traités accordent une place réellement trop restreinte à la technique microscopique. Cela tient surtout à ce que les savants que nous venons de nommer ont eu pour but principal la description des organismes inférieurs, et alors, devant un labeur si important, ils ont dû nécessairement sacrifier beaucoup de détails techniques. — Le Dr Hueppe, en circonscrivant considérablement son sujet et en élaguant les chapitres relatifs aux microorganismes a créé un manuel technique fort recherché dont M. Van Ermengem a donné une traduction augmentée des développements que peut comporter la description des procédés bactériologiques. On peut affirmer que cet auteur, depuis longtemps préparé à ce travail par de savantes recherches connues de tous, a accompli cette tâche avec toute la science et la compétence désirables.

L'ouvrage de M. Van Ermengem est divisé en quatre grands chapitres :

Le premier traite de la génération spontanée et de la stérilisation des milieux de culture ; le second, le plus long des trois, est subdivisé en nombreux paragraphes individuellement consacrés à une branche importante de la micrographie, l'un traite des instruments d'optique microscopique, un autre des diverses méthodes d'investigation, d'autres des procédés divers de coloration, des causes d'illusion auxquelles ces procédés peuvent donner lieu, etc.

Dans le troisième chapitre, M. Van Ermengem initie le lecteur à la préparation des milieux nutritifs et le guide dans le choix de ces milieux, lui décrit les moyens adoptés pour les purger de germes, lui enseigne à obtenir des cultures pures, et lui expose enfin les divers modes d'ensemencement.

Dans le dernier chapitre, plus court, se trouve résumée une étude générale du rôle des bactéries dans les fermentations, et la nomenclature des expériences que le bactériologiste est appelé à pratiquer sur les animaux.

Ce volume, M. Van Ermengem le fera prochainement suivre d'un second où seront rassemblées les analyses spéciales applicables à l'étude des microgermes si variés que nous connaissons aujourd'hui.

En somme, le livre que nous signalons possède toutes les qualités que doit offrir un ouvrage didactique; il est impartial, bien divisé, bien écrit, constamment instructif. On trouvera peut-être que M. Van Ermengem accorde une valeur trop absolue aux procédés vulgarisés par le Dr Koch dont personne ne songe à nier la simplicité et l'utilité, mais que l'expérience des laboratoires démontre journellement ne pouvoir donner toutes les garanties d'exactitude que les auteurs allemands, dans un enthousiasme exagéré, nous avaient dès l'abord promis. Avec le Dr Hansen, j'ai maintes fois constaté que l'apparence homogène des colonies nées sur la gélatine est souvent fort trompeuse, et, dans un prochain travail, je démontrerai que l'impureté de ces colonies est la règle, et leur pureté presque l'exception.

Le manuel de M. Van Ermengem, déjà paru depuis un an, ne tardera pas à être épuisé; nous engageons donc vivement nos lecteurs à profiter de la bonne fortune qui leur est encore offerte de se procurer un livre de première utilité pour tous ceux qui veulent se livrer à des recherches microbiologiques.

Dr M.

Dr Ferd. Hueppe. — **Die Methoden der Bakterien-Forschung** (*Des méthodes employées dans les recherches bactériologiques*, 4e édition entièrement remaniée et considérablement augmentée, 1889, 1 vol. gr. in-8°, 434 p. avec 68 grav. en noir et 2 en couleur. C. W. Kreidel, éditeur, Wiesbaden.

Les lecteurs français connaissent déjà l'excellent ouvrage de M. le Dr Hueppe sur les méthodes usitées en bactériologie. En un an ce livre avait vu se succéder trois éditions, signe de l'accueil bien mérité que lui avait fait le public savant. Depuis, les progrès incessants réalisés en bactériologie ont engagé l'auteur à en faire

paraître une quatrième édition. M. Hueppe ne s'est toutefois pas borné à compléter le texte des anciennes éditions en y ajoutant simplement les résultats des récentes recherches sur la matière, il l'a remanié en entier pour mieux pouvoir suivre le développement historique des différentes méthodes et l'a enrichi de chapitres absolument nouveaux. Aussi, l'ouvrage est-il considérablement augmenté. La 3e édition comptait 244 pages, l'actuelle en a 434. Ceux qui connaissent par expérience l'importance des questions de méthode en bactériologie, et qui savent combien souvent le succès ou l'insuccès de l'expérimentateur dépendent de détails purement techniques, ne se plaindront pas du développement pris par ce traité; après l'avoir lu ils penseront certainement, comme nous, qu'il constitue à l'heure qu'il est le manuel le plus complet qui existe sur cette matière. Pour s'en assurer, il suffit de le comparer aux manuels de microbiologie qui consacrent dans leur partie générale à peine une centaine de pages aux questions de méthode, de stérilisation, d'inoculation, etc.

La place nous manque pour analyser, même succinctement, un ouvrage d'une pareille richesse; nous devons nous borner à en indiquer sommairement la division.

L'ouvrage, précédé d'une courte introduction historique, comprend deux parties principales : la technique microscopique et la technique expérimentale. Dans la première on trouve tout ce qui a trait à l'emploi du microscope et aux préparations microscopiques de bactéries. La théorie de la coloration est soigneusement étudiée, de même que la technique des coupes. La seconde partie traite des milieux de culture, des méthodes de stérilisation, bref, de tout ce qui a trait à la culture des bactéries. Enfin, quelques chapitres sont encore consacrés à des points spéciaux, tels que les méthodes d'infection, de vaccination, et la biologie générale (saprophytes, fermentations, etc.), ainsi qu'à l'examen de l'eau, du sol et de l'air. Toutes ces questions sont traitées avec une grande compétence et aussi, au point de vue de la critique, avec une grande impartialité.

Nous souhaitons à cette 4e édition le succès dont ont joui celles qui l'ont précédée.

E. F.

Dr F. Henrijean. — **Recherches expérimentales sur les diverses méthodes de pansement** (Bruxelles, 1888.)

Parmi les mémoires parvenus au bureau des *Annales de Micrographie*, nous remarquons l'intéressant travail du Dr Henrijean, sur le traitement antiseptique des plaies, dont plusieurs

parties se rattachent aux questions que nous traitons habituellement. Parmi elles, citons quelques recherches originales sur la suppuration, sur la présence des germes pyogènes dans l'air des salles de chirurgie, sur la valeur comparée des antiseptiques, sur les accidents auxquels ils peuvent donner lieu. Tout en regrettant de ne pouvoir nous étendre davantage sur le mémoire du traducteur du Dr Flügge, nous ne pouvons dissimuler l'impression favorable que cette étude nous a produit et nous empêcher de reconnaître que l'esprit de méthode et la sûreté de vue dont le Dr Henrijean y fait preuve le rangent au nombre des bactériologistes dont la Science attend de nombreuses et fructueuses découvertes.

Dr M.

F. Lahille. — **Tableaux de Travaux pratiques,** 1re partie : *Techniqu générale* (Faculté des Sciences de Toulouse. Laboratoire de Zoologie.)

M. Lahille a condensé dans 16 tableaux in-4°, suivis d'autant de pages blanches, destinées à recevoir des notes complémentaires, les manipulations élémentaires auxquelles doit se livrer le débutant micrographe. Ce travail, fait par un jeune naturaliste fort au courant de la pratique du laboratoire, constitue un excellent mémorandum pour l'élève, en même temps qu'il lui donne un cadre dans lequel viennent se ranger méthodiquement et pour ainsi dire, jour par jour, ses exercices d'histologie.

F. D.

Bütschli. — **Protozoa,** 50, 51 et 52 livr., pages 1489-1584, pl. 72-75. *Bronn's classen und Ordnungen des Thier. Reichs.*

Ce fascicule est presque tout entier consacré à l'étude des éléments nucléaires, chez les Infusoires ciliés. Il contient en outre l'étude des couches muqueuses, des enveloppes gélatineuses, du style, du développement et de la formation des colonies.

F. D.

L'Éditeur-Gérant :
Georges CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

SUR LA FORMATION
DE L'HYDROGÈNE SULFURÉ PAR LES BACTÉRIES

PAR

Le Dr méd. HOLSCHEWNIKOFF (de Cronstadt) (1)

En faisant des analyses d'eau dans le laboratoire bactériologique de l'Institut Frésénius, M. le Dr Lindenborn avait découvert un organisme qui provoque dans le bouillon une très vive production d'hydrogène sulfuré. Le départ de M. Lindenborn l'ayant empêché de terminer l'étude de cette bactérie, je l'ai reprise, sur le désir de M. le Dr Hueppe, en lui donnant, en même temps, plus d'extension. Bien que mes propres recherches ne soient pas sans lacunes, elles ont cependant mis au jour un certain nombre de faits encore inconnus, concernant ce processus de fermentation ou de putréfaction, dont la publication sera d'autant plus justifiée que l'expiration de mon congé m'empêche de les poursuivre plus loin.

Le premier organisme, trouvé dans l'eau, montre une telle analogie avec le *Proteus vulgaris* de Hauser, que je lui donne le nom de *Proteus sulfureus*, pour marquer son origine différente. En raison de la variabilité assez considérable que l'on constate dans le groupe « *Proteus* » (Hauser), suivant le terrain de culture employé, je préfère

(1) Travail fait dans le laboratoire bactériologique de M. le Dr Hueppe, à Wiesbaden.

ne pas trancher la question de savoir si l'organisme isolé par M. le Dr Lindenborn est identique avec le *Proteus vulgaris*, qui produit également de l'hydrogène sulfuré, ou s'il n'en est qu'une variété. Sur plaques de gélatine il forme d'abord des colonies isolées, de couleur blanche, d'où les bâtonnets et filaments envahissent, en l'amollissant, les parties encore intactes de la gélatine, sur laquelle ils forment les îlots mobiles décrits par Hauser. Les colonies ont alors bientôt produit la liquéfaction de la gélatine, sous forme de larges entonnoirs circulaires, d'un gris blanc. Les colonies sont composées, au début, de bâtonnets très nets et allongés, qui croissent en forme de chaînettes ou de filaments. Quand la gélatine commence à se liquéfier, les bâtonnets deviennent plus courts et, au bout de quelques jours, on trouve, en place et à côté des bâtonnets, des chaînettes de cellules ovales ou rondes. Ces chaînettes qui, fréquemment, sont aussi régulières que celles que forment les vrais *Streptococcus*, comptent jusqu'à 80 individus. Ceux-ci ont une largeur moyenne de 0,8μ et sont longs de 0,8-1,6μ. Si on les inocule dans la gélatine par piqûre, il se forme le long de celle-ci une traînée grisâtre; au sommet de la piqûre la liquéfaction commence en forme d'entonnoir et progresse peu à peu.

Sur gélose cet organisme forme des gazons épais d'un gris blanc; sur pommes de terre, les gazons sont visqueux, blanchâtres au début et brunâtres dans la suite. Dans le lait, aucune altération n'est visible les premiers jours, cependant il se forme quelquefois, à partir du dixième jour, au-dessus de la couche de crème, une zone claire dont l'épaisseur augmente peu à peu. Plus tard, j'ai constaté que l'alcalinité du lait exerce une certaine influence sur ce phénomène. Dans du lait faiblement acide cette séparation ne se produit que très lentement, et elle ne devient distincte que quand la réaction est devenue neutre ou alcaline par le fait des bactéries. Dans du lait, par contre, dont la réaction est légèrement alcaline dès le début, cette zone claire au-dessus de la crème se forme un peu plus vite. Toutefois, il ne se produit pas de coagulation distincte, semblable à celle que provoque la présure et que déterminent souvent diverses bactéries, mais la pepto-

nification et la dissolution de la caséine semblent, dans ce cas, se faire directement, sans coagulation préalable, et procèdent des couches supérieures aux inférieures. Le lait prend en même temps une nuance jaune prononcée et un goût amer. Tout le processus exige, pour se terminer, plusieurs semaines. Dans aucun milieu de culture on ne peut constater la présence de spores endogènes (voir à ce sujet le travail du Dr Caneva sur les bacilles de la pomme de terre).

Un second organisme producteur de l'hydrogène sulfuré a été isolé de la vase d'un réservoir de Wiesbaden. Une parcelle de cette vase avait été ensemencée, dans un autre but, dans du bouillon, et l'on constata quelquefois une production d'hydrogène sulfuré. Pensant avoir retrouvé l'organisme décrit précédemment, je fis des cultures sur plaques, mais le résultat fut négatif. J'ensemençai alors de nouveau des ballons de bouillon avec cette vase, et je remarquai alors quelquefois que des bandes de papier, imprégnées de sels de plomb, suspendues dans les ballons, ne se noircissaient que lorsqu'on secouait ces derniers. Ceci pouvait faire supposer que les bactéries productrices d'hydrogène sulfuré qui habitaient cette vase étaient peut-être des anaérobies. Avant de recourir à de nouvelles plaques, je commençai donc par faire, à titre d'orientation, quelques « cultures en masse »; pour cela, j'ensemençai des parcelles de vase dans du bouillon recouvert d'huile stérilisée. De cette façon, l'hydrogène sulfuré se produisit plus énergiquement, et j'ensemençai, au moment où cette décomposition était dans son plein, une goutte de la culture dans un nouveau ballon de bouillon également recouvert d'huile stérilisée. Après avoir répété quelquefois l'expérience, on put constater, à l'examen microscopique, que l'on se trouvait en présence d'une culture pure. Celle-ci servit alors, de nouveau, à faire des cultures sur plaques. Sur ces dernières il se développa principalement une espèce de bâtonnets encore inconnue. Au bout de 48 heures, on voyait dans la gélatine naître des petits points blancs-jaunes, nettement délimités, qui, là où ils arrivaient à la surface de la gélatine, commençaient à la liquéfier lentement en forme d'entonnoirs. La liquéfaction marchant



plus lentement que l'évaporation de la gélatine liquéfiée, il se forma de petits entonnoirs à bords nets et remplis d'air qui, macroscopiquement, donnent aux plaques une ressemblance frappante avec celles du bacille-virgule. Il faut 8 à 10 jours pour amener la liquéfaction totale des plaques ; pendant ce temps, le ton jaunâtre des colonies situées dans la profondeur devient plutôt brunâtre. Dans les cultures faites sur gélatine inoculée par piqûre, il se forme, le long de celle-ci, de fines colonies; la liquéfaction marche lentement et commence par le haut de la piqûre, où elle produit un entonnoir dans lequel la gélatine liquéfiée s'évapore peu à peu. La couleur des colonies, qui est blanchâtre partout où l'air a accès, est, dans la piqûre, plutôt jaunâtre, et devient plus tard rougeâtre ou rouge-brun. Lorsque l'on recouvre la piqûre d'huile ou de gélatine, la liquéfaction ne se produit pas; les colonies naissent le long de la piqûre, et prennent peu à peu une couleur rouge-brun allant jusqu'au rouge. *Cette couleur rouge ne se forme qu'en l'absence d'oxygène.* Nous possèderions ainsi, outre le *Spirillum rubrum* qui lui aussi ne forme sa couleur rouge que quand il est privé d'air, une seconde espèce microbienne, dont le pigment se manifeste en dehors de l'accès de l'air.

Sur la gélatine, ces bactéries croissent lentement; sur la gélose, au contraire, tenue à la température du sang, elles se multiplient assez bien et vite, en y formant un gazon gris et visqueux; dans ce milieu, les colonies prennent peu à peu une teinte rosée allant jusqu'au rouge-brun. Inoculées de la façon ordinaire sur pommes de terre, elles n'y croissent pas; elles s'y développent toutefois quand on chasse tout l'air des tubes de culture à l'aide de la pompe, ou qu'on le raréfie du moins fortement; il se forme alors, sur les pommes de terre, un enduit rougeâtre, tirant sur le brun. Dans le lait, que sa réaction soit acide ou alcaline, aucune modification visible ne se produit pendant les 10 premiers jours, bien que les bactéries y pullulent. Plus tard, la caséine se dissout peu à peu, presque comme cela a lieu dans les cultures de *Proteus*. Examinées au microscope, ces bactéries se présentent sous forme de minces bâtonnets à bouts arrondis, avec une largeur moyenne de 0,5μ et une lon-

gueur de 1,6 à 2,4μ. Elles sont douées de mouvements assez lents; dans aucun milieu de culture je n'ai pu leur voir former d'endospores. Je les désignerai sous le nom de *Bacterium sulfureum*. Dans les cultures plus âgées, un grand nombre des bâtonnets se résolvent en articles plus courts, semblables à des micrococcus; ce phénomène ne se produit cependant pas avec autant de régularité que dans les cultures de la variété de *Proteus* dont il a été parlé plus haut. Par contre, je ne puis encore trancher la question de savoir si, à côté de ces formes de micrococcus, il existe des formes de dégénérescence ou des spores.

Les recherches entreprises à titre d'orientation en vue de déterminer les caractères de ces deux bactéries qui, toutes deux, produisent occasionnellement de l'hydrogène sulfuré avec énergie, avaient fait constater des différences considérables au point de vue biologique. La variété de *Proteus* avait présenté les caractères d'un organisme avant tout aérobie, qui ne paraissait pas, ou du moins à peine, capable de vivre dans les conditions de l'anaérobiose, tandis que chez la seconde espèce le caractère anaérobie prédominait; tout au plus pouvait-on la considérer comme facultativement aérobie. Une étude plus prolongée de ces différences biologiques semblait donc devoir présenter quelque intérêt, attendu que la production d'un corps tel que l'hydrogène sulfuré faisait supposer, au point de vue purement chimique, des rapports étroits avec le manque d'oxygène, et non avec l'aérobiose. La constatation de l'hydrogène sulfuré se faisait au moyen de bandes de papier à filtrer imbibées d'une solution d'acétate de plomb alcaline.

Une première série d'expériences fut consacrée à étudier l'action de ces organismes sur les corps organiques, qui paraissaient devoir provoquer, par le dédoublement et la réduction que leur fait subir le processus de la putréfaction, la formation chimique d'hydrogène sulfuré. Pour éviter des répétitions, je désignerai, dans la suite, le *Proteus sulfureus* par le chiffre *I* et le *Bacterium sulfureum* par le chiffre *II*.

M. Lindenborn avait déjà essayé d'ensemencer des œufs entiers avec *I*, procédé qui, ainsi qu'il put s'en assurer,

donne d'excellents résultats toutes les fois que l'on désire s'orienter au sujet de certains caractères des cultures relatifs à l'anaérobiose. *I* ne crut pas dans l'œuf et n'y forma point d'hydrogène sulfuré, tandis que *II* y produisit un dégagement d'hydrogène sulfuré déjà abondant au bout de 3 à 4 jours.

Lorsqu'on n'empêche pas l'accès de l'air, *I* et *II*, cultivés sur du blanc d'œuf cru, produisent un peu d'hydrogène sulfuré à partir du cinquième jour; sur du jaune d'œuf cru, la formation de ce gaz est considérable déjà à partir du second jour. En employant du blanc d'œuf cuit dur, *I* et *II* provoquent déjà, au bout de 24 heures, une forte production d'hydrogène sulfuré; sur du jaune d'œuf cuit dur, cette production n'est que faible au bout de ce temps et n'augmente pas dans la suite. Dans cette série d'expériences, *I* et *II* se sont pas comportés de la même façon, fournissant ainsi un exemple de l'importance de la composition chimique du milieu de culture. Ce qu'il y a de plus curieux, c'est la différence frappante que présentent à cet égard les albuminates recueillis avec les précautions nécessaires pour en assurer la stérilité, et qui, par conséquent, n'ont encore subi aucune altération chimique, et les albuminates stérilisés par l'emploi de températures élevées, qui ont, par conséquent, été modifiés chimiquement. Depuis quelques années déjà, MM. Loen, Bokarny et Pflüger ont insisté sur les différences chimico-physiologiques qui existent entre l'albumine vivante et l'albumine morte; cette différence se manifeste d'une façon remarquable dans nos expériences au point de vue biologique. Ces faits, ainsi que l'a déjà fait remarquer M. Hueppe, font ressortir la nécessité de se servir, dans les recherches pathologiques, d'albuminates crus, recueillis aseptiquement, et sans leur faire subir d'altérations chimiques, au lieu de se servir, comme on l'a fait jusqu'ici pour la culture des bactéries pathogènes, de terrains nutritifs altérés chimiquement et rendus, par là, impropres à devenir l'objet de certaines décompositions chimiques. M. Wood a réussi de cette manière, dans le laboratoire de M. Hueppe, à faire récupérer leur virulence aux bacilles du choléra, au moyen de méthodes physiologiques très-simples, bien avant que l'on eut publié les

procédés de culture qui permettent de modifier leurs caractères.

Il semble du reste que, suivant les espèces microbiennes employées, c'est tantôt l'albumine crue, tantôt l'albumine cuite qui se prête le mieux à ces décompositions chimiques, et les modifications produites dans l'albumine par la stérilisation sont si différentes dans les diverses classes d'albuminates, qu'il peut aussi se présenter le cas contraire que certains corps albuminoïdes sont précisément rendus, par la cuisson, propres à la production de toxines basiques. Pour arriver à connaître les produits spécifiques des dédoublements et, en particulier, ceux de nature basique, il faudra, en tout cas, se servir des corps albuminoïdes sur une plus grande échelle, attendu que le bouillon ordinaire est absolument incapable d'être l'objet de certaines décompositions.

Les mêmes expériences furent alors reprises en recouvrant les cultures d'huile stérilisée pour diminuer l'accès de l'air, procédé qui permet d'obtenir une véritable anaérobiose, du moment où l'hydrogène sulfuré commence à se produire. Comme il est facile à appliquer, je pus répéter les expériences plusieurs fois, d'autant plus que les expériences faites au moyen des méthodes plus exactes m'avaient donné les mêmes résultats.

Cultivés de cette manière sur du blanc d'œuf cru, *I* et *II* ne produisirent, même après plusieurs semaines, aucune quantité appréciable d'hydrogène sulfuré; sur le jaune d'œuf cru, au contraire, on constate un fort dégagement de ce gaz. Sur du blanc d'œuf cuit, *I* produisit plus d'hydrogène sulfuré que *II;* le résultat fut le même sur le jaune d'œuf cuit. Quand la culture se fait dans du sérum de sang liquide, avec accès de l'air, on trouve de l'hydrogène sulfuré déjà au bout de 24 heures et en plus grande quantité qu'à l'abri de l'air, où il ne commence à se former qu'après 48 heures. Le contraire a lieu quand on emploie du sérum coagulé : à l'abri de l'air, on y constate, en effet, un très-fort dégagement de gaz. Dans du sang coagulé, la production d'hydrogène sulfuré est modérée, même après 3 jours, et cela tant à l'abri de l'air que dans les cultures faites à l'air libre. Dans le bouillon ordinaire, peptonisé et salé, *I*

et *II* produisent tous deux, avec et sans air, un fort dégagement d'hydrogène sulfuré. Avec une solution de peptone à 1 0/0 et d'extrait de viande à 0,5 0/0, le résultat est analogue, tandis que dans le bouillon non additionné de peptone la production d'hydrogène sulfuré reste minime. Dans le lait et dans la caséine stérilisés, il ne se produisit, pour ainsi dire, *point d'hydrogène sulfuré*. Ce n'est que peu à peu, surtout quand on ajoute du carbonate de chaux, que se produit la dissolution de la caséine dans le lait; il se forme alors plus tard, aussi dans le lait, de l'hydrogène sulfuré, à peu près comme dans les solutions de peptone. La production de gaz reste toutefois toujours faible, et il se passe plusieurs semaines avant qu'elle apparaisse. Le résultat fut le même à la température de la chambre et à l'étuve. Dans ces différents cas, c'est le *milieu de culture qui semble avoir exercé l'action décisive,* car les résultats obtenus dans ces expériences parallèles sont remarquablement semblables, bien que la biologie de ces deux espèces bactériennes puisse faire prévoir de notables différences. J'attire particulièrement l'attention sur ce fait que la variété de *Proteus I,* genre chez lequel M. Hauser avait déjà noté la faculté de vivre occasionnellement aussi à l'abri de l'air, peut parfaitement vivre dans une atmosphère raréfiée, et même tout à fait à l'abri de l'air, à condition d'être cultivée sur un milieu qui lui permette de provoquer les dédoublements appropriés. *L'anaérobiose n'est pas seule la cause de ce phénomène ;* ceci ressort de ce que, sur certains milieux, les mêmes dédoublements sont favorisés par l'accès de l'air et que quelquefois ils semblent ne pouvoir être provoqués qu'en sa présence. L'espèce microbienne *II,* de même, qui est, avant tout, anaérobie, s'est trouvée plutôt favorisée par l'accès de l'air sur certains milieux, tandis qu'il était à présumer que son action disloquante serait favorisée par la privation d'air. Les causes intimes de l'anaérobiose devront donc, ainsi que M. Hueppe l'a déjà fait pressentir, être cherchées dans le *protoplasme même.* Je puis, ici, me borner à noter l'influence exercée sur les fonctions de ces microorganismes par la présence ou l'absence de l'air, attendu que ces problèmes biologiques, qui ont

donné, d'une part, plus d'extension à la théorie de l'anaérobiose, telle qu'elle a été formulée par M. Pasteur, et l'ont limitée d'autre part, seront prochainement l'objet d'un mémoire spécial de M. Hueppe qui, précédemment déjà, s'était occupé de cette question. A l'avenir, il ne suffira donc pas, pour savoir si un microorganisme peut vivre sans air, d'étudier, comme on l'a fréquemment fait dans le cours de ces dernières années, son action sur le sucre; on ne pourra pas non plus s'en tenir, comme l'a fait Naegeli, à l'étude de son action sur le sucre et la peptone; il faudra, avant tout, se servir aussi de corps albuminoïdes stériles, auxquels on n'aura fait subir aucune altération, et, en particulier, des albuminates du sérum, de la nucléine et de la globuline.

En outre des corps susnommés, j'ai choisi encore, parmi les substances contenant du soufre, l'urine, attendu qu'une forme de l'hydriothionurie est certainement causée par des bactéries. M. Fr. Müller (1) et son élève M. Hæertling (2) ont trouvé, dans de l'urine qui était en état de fermentation sulfhydrique, deux espèces de micrococcus qui formaient de l'hydrogène sulfuré dans l'urine stérilisée. MM. Rosenheim et Gutzmann (3) ont également trouvé un bacille produisant les mêmes effets. Ces auteurs n'ont cependant pas réussi à prouver que ces bactéries sont capables d'opérer une réduction des sulfates, bien que jusqu'ici on ait précisément expliqué la formation d'hydrogène sulfuré dans l'urine par une réduction des sulfates, et leurs expériences les amènent à conclure que le soufre neutre contenu dans l'urine doit être considéré comme la source de l'hydrogène sulfuré, sans trancher la question de savoir s'il peut aussi provenir d'autres combinaisons soufrées.

Comme une hydratation de l'urée, que peuvent d'ailleurs aussi provoquer *I* et *II*, était indifférente pour mes expériences, je stérilisai l'urine par la vapeur. Dans quelques

---

(1) *Berliner, Klin. Wochenschrift*, 1887, Nr 23.

(2) *Sur la présence d'hydrogène sulfuré dans l'urine*, dissertation. Berlin, 1886.

(3) *Fortschritte der Medicin*, 1887, Nr 11, et *Deutsche med. Wochenschrift*, 1888, Nr 10.

expériences, l'urine fut employée sans aucune adjonction; dans d'autres, j'ajoutai 0,5 % de sulfate de sodium ou 0,5 % d'hyposulfite de sodium. Une série d'expériences fut faite en présence de l'air, l'autre en en empêchant l'accès par de l'huile stérilisée.

En présence de l'air, *I* ne forma *point d'hydrogène sulfuré* dans l'urine pure, ni dans celle additionnée de sulfate; il en produisit, par contre, dans l'urine additionnée d'hyposulfite; je reviendrai sur ce point en parlant des expériences faites avec des dissolutions de sels. A l'abri de l'air, cette bactérie n'exerce aucune action sur l'urine. L'espèce *II* agit tout autrement. En présence de l'air, elle produit, dans l'urine pure, une quantité modérée d'hydrogène sulfuré; la quantité de ce gaz augmente quand on ajoute du sulfate, et devient très forte avec l'adjonction d'hyposulfite. A l'abri de l'air, la production d'hydrogène sulfuré dans l'urine pure et dans l'urine additionnée de sulfate est considérablement plus vive qu'en présence de l'air, et, dans l'urine additionnée d'hyposulfite, elle était aussi forte à l'abri de l'air qu'en présence de l'air. Le *Bacterium sulfureum* est donc incontestablement capable de *décomposer, avec production d'hydrogène sulfuré, l'urine placée, relativement à l'oxygène, dans les conditions que l'on rencontre dans la vessie.* L'action plus marquée que l'on note lorsque l'on ajoute des sels donne lieu de croire qu'outre le soufre neutre de l'urine les sels sulfatés participent également à la production d'hydrogène sulfuré.

Dans les corps employés jusqu'ici, le soufre peut se trouver sous deux formes : sous forme de soufre neutre ou non oxydé, et sous forme de soufre oxydé, en particulier à l'état de sulfates. Dans le premier cas, le dédoublement des molécules complexes qui contiennent le soufre doit précéder la *formation de l'hydrogène sulfuré,* qui devient ainsi un effet partiel du dédoublement des albuminates et de leurs plus proches dérivés sulfurés. Les recherches pratiquées dans le laboratoire de M. Hueppe, en particulier sur les bactéries du choléra, ont démontré que, dans les cas de dédoublement simple, avec exclusion d'oxydation secondaire, la formation des produits basiques

provenant du dédoublement, c'est-à-dire les ptomaïnes toxiques et les non toxiques, épuisent les albuminates, de même que la formation de l'alcool, de l'acide butyrique et de l'acide lactique épuisent les hydrocarbures. On est donc autorisé, dans ces conditions, à comparer l'hydrogène sulfuré provenant des albuminates avec l'hydrogène qui peut se former lors du dédoublement des hydrocarbures. Dans le cas, par contre, de réduction directe de soufre oxydé, par exemple de sulfates ou d'hyposulfites, la production de l'hydrogène sulfuré doit être considérée comme une action spécifique du protoplasme. Cette différence biologique dans la formation de l'hydrogène sulfuré explique comment des *espèces différentes* de microorganismes peuvent, tout en décomposant les corps sulfurés complexes d'une façon différente, en tirer, *comme même produit de réduction,* de l'hydrogène sulfuré. Les recherches de M. Buchner ont fait voir que les bactéries du choléra peuvent former de l'hydrogène sulfuré dans le sang, et M. Wood a démontré, par les travaux qu'il a faits dans le laboratoire de M. Hueppe, que tout le groupe des bacilles-virgules, ainsi que quelques bactéries de l'intestin, produisent le même gaz en dédoublant divers albuminates. A ces résultats on pourrait encore joindre la production d'hydrogène sulfuré dans les milieux albuminoïdes, constatée par M. Miquel (1), qui a démontré en outre l'hydrogénation directe du soufre libre par les bactéries, M. Miller (2) et MM. Strassmann et Strecker (3). Mais, dans ces cas, hors celui que signale M. Miquel, il est toujours nécessaire que les bactéries dédoublent les albuminates. Les espèces microbiennes qui, pour attaquer les corps sulfurés complexes, sont obligées de recourir à l'oxydation, ne provoquent pas la formation d'hydrogène sulfuré, ainsi que je l'ai trouvé pour certaines espèces, et, pour autant, la formation de l'hydrogène sulfuré est indépendante du milieu de culture et ne dépend que des microorganismes qui la provoquent.

---

(1) *Annuaire de Montsouris*, pour l'année 1880.

(2) *Deutsche med. Wochenschrift*, 1885, Nr 49.

(3) *Zeitschrift für Medizinalbeamte*, 1888, Nr 3.

L'hydrogène sulfuré pouvant être formé comme produit secondaire lors du dédoublement des molécules sulfurées complexes, comme aussi par la réduction du soufre oxydé, il est, *a priori*, même invraisemblable que chaque espèce microbienne capable de tirer de l'hydrogène sulfuré des corps albuminoïdes doive aussi, nécessairement, réduire les sulfates. Quelques espèces sont probablement capables d'exercer cette double action simultanément, tandis que d'autres ne peuvent en exercer qu'une seule. Cette hypothèse trouve un appui dans mes expériences, et l'on peut voir quelque chose d'analogue dans le fait découvert par MM. Hueppe et Fitz, et confirmé par MM. Leube et Grasser, fait qui, à première vue, paraît encore bien plus étrange, à savoir que certaines bactéries qui tirent des albuminates de l'ammoniaque d'une façon énergique, ne parviennent pas à décomposer en ammoniaque et en acide carbonique l'urée, corps pourtant si facilement hydratable, tandis que d'autres espèces sont susceptibles de produire ces deux phénomènes.

Les espèces *I* et *II* avaient formé de l'hydrogène sulfuré dans le bouillon peptonisé, en présence et à l'abri de l'air. J'ajoutai maintenant au bouillon 0,5 à 3 % de sucre de raisin et de sucre de lait. La différence avec les expériences de contrôle, faites sans sucre, fut frappante; ces dernières donnèrent, en peu de temps, la réaction de l'hydrogène sulfuré d'une manière très prononcée, avec dégagement d'une odeur repoussante, tandis que les cultures additionnées de sucre n'avaient point de mauvaise odeur et ne donnaient pas la réaction de l'hydrogène sulfuré.

Ainsi que je l'ai dit plus haut, il ne s'était point produit d'hydrogène sulfuré dans le lait ni dans la caséine. *La même espèce microbienne provoquait donc, selon le milieu, une putréfaction à odeur repoussante ou sans odeur.* Dans le bouillon sucré, l'hydrogène sulfuré ne se forma que plus tard; je pus, toutefois, favoriser sa production par l'adjonction de carbonate de chaux. Quand on n'ajoute point de sucre, la réaction neutre est rendue alcaline par ces deux bactéries, qui déterminent aussi une hydratation de l'urée, avec formation d'ammoniaque. Quand le bouillon contient du sucre, ce dernier est d'abord transformé en

acide, et, tant que l'acidité dure, la formation d'hydrogène sulfuré n'a pas lieu. Mais lorsque l'ammoniaque, formé en même temps que l'acide dans les albuminates, a neutralisé l'acide produit par le sucre, ou quand on ajoute du carbonate de chaux, et que la réaction devient ainsi neutre ou alcaline, l'hydrogène sulfuré commence à se former et, en même temps, l'odeur des cultures, d'indifférente qu'elle était au début, devient insupportable. Ce fait, rapproché d'une observation de Billroth, n'est peut-être pas sans intérêt pratique. On se rappelle que ce chirurgien avait remarqué que la fétidité d'un cancer du sein qu'il n'était pas possible d'opérer avait disparu du moment où la malade avait recouvert la plaie de figues cuites dans du lait. M. Garré (1) avait expliqué ce fait par un antagonisme bactérien, en supposant que les bactéries productrices de la putréfaction de l'albumine et de la fétidité avaient été chassées par des microbes producteurs d'acide lactique ne formant point de mauvaises odeurs. Cependant, il résulte de mes recherches que les microbes producteurs de la putréfaction fétide peuvent eux-mêmes, quand les conditions où ils se trouvent sont changées, produire des effets différents; les deux espèces que j'ai étudiées sont, en particulier, privées du pouvoir de produire de l'hydrogène sulfuré dans le lait et, en général, d'y provoquer une putréfaction fétide. Je ne puis naturellement pas dire si le cas en question doit être expliqué de cette façon, ou bien si l'hypothèse de M. Garré lui est applicable, et je me borne à appuyer sur la possibilité d'expliquer ce fait bien connu, cité par Billroth, de deux façons qui, toutes deux, sont basées sur des faits. Dans la pratique, la chose n'est pas tout à fait sans importance, parce qu'on a déjà constaté dans des carcinômes fétides la présence, du moins, des *Proteus* de Hauser, auxquels appartient mon organisme *I*, et que la fabrication de produits fétides par ces bactéries dépend du milieu nutritif.

Pour voir si les deux espèces peuvent aussi provoquer la réduction des sels de soufre, je préparai la solution suivante :

---

(1) *Correspondenzbl. für Schweiz Aerzte*, 1887, nr 13.

Bi-sulfate de potasse	0,2 %
Phosphate neutre de chaux	0,1 %
Chlorure de magnésium	0,02 %
Chlorure de sodium..................	0,2 %

A cette solution-type on ajoutait 0,5 de sulfates, savoir : sulfate de potasse, sulfate de soude, sulfate de magnésie et sulfate de chaux, tantôt séparément, tantôt mélangés diversement. Quelques-unes de ces dissolutions furent, en outre, additionnées, comme source d'azote, de 0,5 % de tartrate d'ammoniaque, d'urée ou d'asparagine; ces dernières substances étaient ajoutées tantôt seules, tantôt avec 0,5-1 % de sucre de raisin. *Dans aucun cas il ne se forma d'hydrogène sulfuré*, ni en présence, ni à l'abri de l'air. En neutralisant les solutions, acides au début, on n'obtint pas d'autre résultat. Cependant, je ne voudrais pas affirmer qu'une réduction des sulfates soit impossible.

Les expériences faites avec les acides sulfoconjugués donnèrent également des résultats négatifs. Les expériences déjà citées avec l'urine, dans lesquelles l'urine, additionnée de sulfate, donnait avec *II* plus d'hydrogène sulfuré que l'urine pure, pouvaient le faire supposer, et M. Lindenborn, déjà, avait obtenu des résultats positifs en ajoutant à la solution 0,5 % de myronate de potasse. Ce dernier se dédoubla, d'une façon analogue à la myrosine, en sucre et en acide sulfurique, décomposition que l'on ne savait pas jusqu'ici pouvoir être effectuée par des bactéries, et, au bout de 48 heures, on pouvait régulièrement constater la présence d'hydrogène sulfuré. Bien que ces faits ne soient pas absolument probants, ils donnent cependant lieu d'espérer que des modifications dans la concentration ou dans la composition des solutions seront suivies de résultats positifs. Le manque de temps m'empêcha, toutefois, d'instituer des expériences dans ce sens. J'avais, cependant, fait simultanément une série d'expériences avec d'autres sels. Toutes les expériences faites avec des composés sulfocyanurés donnèrent des résultats négatifs. J'en obtins, au contraire, de positifs avec 0,5 % d'*hyposulfite de sodium*. Lorsqu'on ajoute à la solution-type un hyposulfite ou un des sels de sodium sus-indiqués, on obtient,

en 24 heures, une production modérée d'hydrogène sulfuré; elle devient forte quand on remplace les sels azotés par 0,5 % de sucre de raisin. Elle cesse, par contre, quand la solution devient neutre et que l'on emploie du K_2HPO_4 au lieu de phosphate acide de potasse KH_2PO_4. Les mêmes effets se produisirent à l'abri de l'air. *La variété de* Proteus I *réduit donc, en présence de l'air, dans des dissolutions acides, le soufre oxydé existant dans la solution sous forme d'hyposulfite.*

L'espèce *II*, en présence de l'air, ne produisit point d'hydrogène sulfuré dans les mêmes dissolutions, ni dans les dissolutions acides, ni dans les neutres. A l'abri de l'air, au contraire, elle en forma beaucoup dans les solutions acides; ici, la supériorité des solutions additionnées de sucre était moins marquée. Ainsi, *le* Bacterium sulfureum *réduit, dans les solutions acides et à l'abri de l'air, le soufre oxydé existant dans la solution sous forme d'hyposulfite.* Contrairement à ce qui a lieu dans les dissolutions neutres d'albuminates à molécule complexe renfermant du soufre, le sucre, en sa qualité de milieu nutritif propice, favorisait ce processus dans la solution acide de sels.

D'après ces expériences, c'est dans les dissolutions de sels que la nature différente de ces deux organismes, en ce qui concerne le besoin d'oxygène et l'anaérobiose, se montre le mieux.

L'espèce *I*, qui est surtout aérobie, appartenant au genre *Bacterium termo* de Cohn, l'opinion de ce savant, d'après lequel aucune putréfaction n'a lieu sans *Bact. termo,* est réhabilitée par mes expériences complétant celles de Hauser, au moins dans ce sens que ce genre est susceptible de produire une putréfaction fétide et aérobie. Elles démontrent, de même, pour d'autres cas, la justesse de l'opinion contraire de M. Pasteur sur la putréfaction, modifiée dans ce sens qu'une décomposition fétide peut se produire dans l'anaérobiose. En ce qui concerne les espèces microbiennes, que leurs qualités protéolytiques adaptent particulièrement à la décomposition des matières albuminoïdes par la production de diastases, M. Escherich avait admis qu'elles ont perdu toute faculté synthétique à l'égard des sels. Mes expériences montrent, toutefois,

que cette opinion a besoin d'une restriction. Les deux espèces que j'ai étudiées sont capables, quand elles peuvent exercer une action spécifique, — de ce cas est la réduction de soufre oxydé,— une fois mises en présence de sels purs, d'en tirer, par voie de synthèse, tout ce qu'il leur faut pour se nourrir et proliférer, bien qu'elles soient parfaitement aptes à décomposer les albuminates au moyen de ferments solubles.

Lorsqu'on abandonne des cultures dégageant de l'acide carbonique ou de l'hydrogène sulfuré dans un ballon bouché simplement avec de la ouate, ces gaz chassent peu à peu l'air absorbé, en tant qu'il n'est pas consommé par les bactéries, et la couche de gaz qui recouvre le liquide rend nécessairement plus difficile ou empêche même l'absorption ultérieure de l'oxygène et de l'air. Pour ce motif, M. Duclaux, en particulier, a déclaré que toutes ces prétendues fermentations aérobies sont, en réalité, anaérobies, et qu'il ne peut s'agir que de différences quantitatives, comme celles qui existent, par exemple, entre une flamme intense et une flamme faible. Il y avait lieu de soumettre cette objection à un examen direct.

Pour quelques cas analogues on l'a déjà fait. Ainsi, les fermentations lactique, butyrique et alcoolique du sucre sont de véritables dédoublements, et la production d'ammoniaque par l'acide nitrique une véritable réduction. Or, contrairement à ce que l'on était en droit d'attendre, d'aprés la théorie pastorienne de l'anaérobiose telle que M. Duclaux l'avait précisée, M. Hueppe a démontré qu'il se forme, dans une fermentation lactique qu'il a étudié, plus d'acide lactique quand on fait passer de l'air, et qu'il en est de même pour une des fermentations butyriques, et M. Duclaux a, lui-même, constaté la même chose pour la fermentation alcoolique du lactose produite par une levûre; M. Hersaeus, enfin, a trouvé une espèce bactérienne qui réduit l'acide nitrique en ammoniaque malgré l'aération.

Les résultats acquis précédemment semblant indiquer l'emploi du bouillon, pour cette expérience, je procédai de la façon suivante, en répétant, en partie, les expériences positives de M. Lindenborn. Plusieurs ballons furent remplis de quantités égales de bouillon neutre; l'un, rempli à

moitié, n'était bouché qu'avec de la ouate; dans le second, le bouillon était recouvert d'une épaisse couche d'huile allant jusqu'au tampon de ouate; le troisième, enfin, était fermé par un bouchon de caoutchouc par lequel passaient deux tubes, dont l'un, destiné à amener l'air, se prolongeait jusqu'au fond du vase, et dont l'extrémité extérieure était naturellement munie d'un tampon de ouate, tandis que le second, se terminant sous le bouchon de caoutchouc, avait sa terminaison coudée extérieure en communication avec l'aspirateur, et servait à pomper l'air du ballon. Tous les ballons étant maintenus à environ 20°, on fit passer par ce dernier un courant d'air constant et assez fort pour empêcher l'accumulation de l'hydrogène sulfuré dans le bouillon.

Dans le ballon fermé simplement à la ouate, dans lequel l'hydrogène sulfuré pouvait chasser l'air du bouillon et empêcher, en s'accumulant sur le liquide, l'absorption de l'oxygène, et dans lequel ainsi l'aérobiose devait, au bout de quelque temps, n'être, d'après M. Duclaux, qu'apparente et, en réalité, remplacée par l'anaérobiose, on put constater, au bout de 24 heures, la présence d'hydrogène sulfuré avec l'organisme *I* et avec le n° *II*; au bout de 48 heures, on en trouva une forte quantité.

Dans les cultures à l'abri de l'air sous une couche d'huile, où l'élimination de l'oxygène absorbé par le bouillon devait naturellement se produire beaucoup plus rapidement et plus complètement que dans l'expérience précédente, l'organisme *I* ne provoqua une production modérée d'hydrogène sulfuré qu'au bout de 3 jours. L'organisme *II* en produisit une quantité, modérée déjà, au bout de 24 heures, et une très forte après 48 heures.

Ainsi, l'action de l'espèce *I,* qui est surtout aérobie, n'avait pas été aidée, mais entravée par l'anaérobiose, tandis que le contraire eût dû avoir lieu, d'après la théorie de l'anaérobiose. L'espèce *II,* plus anaérobie de sa nature, a, par contre, déployé une grande activité dans ces conditions qui lui étaient favorables.

Dans les ballons soumis à l'aération continue, *I* avait produit déjà, au bout de 24 heures, une faible, et après

48 heures, une forte quantité d'hydrogène sulfuré; *II* n'en avait produit une quantité nettement appréciable qu'au bout de 48 heures, quantité qui, le jour suivant, ne se distingua en rien de celle produite par *I.* L'espèce surtout aérobie *I* semble donc, grâce à l'aération, prendre un peu d'avance sur *II,* mais même *II,* espèce surtout anaérobie, exerce, *malgré l'aération,* une action énergique, consistant en un dédoublement et en une réduction, action qui, théoriquement, devrait être favorisée quand on empêche l'accès de l'air, et retardée ou empêchée par l'aération, c'est-à-dire être convertie en une oxydation. Ce nouvel exemple montre que l'aérobiose et l'anaérobiose ne sont pas tout, et que les causes ultimes devront être cherchées dans les qualités spécifiques acquises du protoplasme.

ÉTUDE COMPARATIVE SUR LA VALEUR ANTISEPTIQUE
des solutions de Biiodure
de Bichlorure de mercure et de Fluosilicate de soude (Salufer)

(suite et fin)

PAR

ALOÏS VIQUERAT

---

§ III. Désinfection des instruments et des mains.

Il nous a paru intéressant de rechercher encore quelle était l'influence antiseptique de ces trois sels sur la matière sous-unguéale.

Déjà Kümmel (*Centralblatt für Chirurgie*, 17, 1887) a publié un article intitulé *Comment le médecin doit-il désinfecter ses mains?* dans lequel l'auteur, parlant des recherches faites dans ce but par Förster, d'Amsterdam, arrive à des résultats différents. S'il est habituellement facile de rendre les instruments de chirurgie aseptiques, de détruire en peu de minutes les microbes qui les souillent, il n'en n'est plus ainsi des mains, qui sont le plus souvent intimement en contact avec les plaies.

Un instrument poli, nickelé, peut être désinfecté en une minute, après avoir été soigneusement brossé avec de l'eau chaude et du savon et avoir été trempé ensuite dans une solution aqueuse de 3 à 5 $^0/_0$ d'acide phénique ou d'eau chlorée ; ce procédé, d'après Kümmel, est absolument sûr.

Des éponges puantes, employées à l'amphithéâtre d'anatomie, peuvent être désinfectées en 3 à 4 minutes, quand elles ont été lavées avec de l'eau très chaude, du savon de potasse, et plongées ensuite 1 à 2 minutes dans l'eau

chlorée, puis dans une solution aqueuse de sublimé à 1 : 1.000 ou d'acide phénique à 5 $^0/_0$.

Il est cependant possible de désinfecter en peu de temps les mains qui ont été en contact avec des matières infectieuses, comme cela arrive dans le traitement des diphtéritiques, des fièvres puerpérales, dans les recherches sur les matières stercorales et dans les opérations de phlegmons, etc., etc., de façon à pouvoir, sans danger d'infection, se livrer aux grandes opérations. Förster s'enveloppait les mains de gants stérilisés pour se préserver de l'infection par l'air qui n'est pourtant pas tant à redouter, car heureusement les microbes qui l'habitent ne sont pas tous pathogènes. Kümmel stérilise ses mains, infestées par le pus, en les nettoyant pendant 5 minutes avec de l'eau chaude et du savon, puis en les brossant avec une solution aqueuse d'acide phénique à 5 $^0/_0$, pendant une minute; appliquées sur de la gélatine stérilisée, elles ne provoquent l'éclosion d'aucune colonie; avec l'eau chlorée, il obtient les mêmes résultats; avec le sublimé à 1 : 1.000, dans quelques cas rares, il se développa quelques petites colonies. Avec le thymol à 6 pour 1.000, mêmes résultats négatifs, sauf une fois où il se développa une seule colonie. Avec l'acide phénique à 3 $^0/_0$, presque pas de germes. L'eau de chlore qu'employait Kümmel était mélangée en parties égales avec de l'eau distillée stérilisée.

Fürbringer, dans une brochure publiée l'an dernier (Wiesbaden, J. F. Bergmann, 1888), n'arrive à des résultats sûrs et rapides qu'après avoir trempé les mains brossées et lavées à l'eau chaude et au savon, dans de l'alcool à 80 cent. ou au-dessus, puis ensuite en les plongeant dans la solution de sublimé à 1 : 1.000. D'après lui, l'alcool dissoudrait les matières grasses et laisserait mieux pénétrer la solution de sublimé sous les ongles; il est arrivé en une minute à la désinfection complète des mains par ce procédé.

Fürbringer montre plus tard combien les solutions aqueuses de sublimé sont peu stables et sujettes à varier, il conseille d'ajouter quelques gouttes d'acide tartrique ou acétique à la solution pour remédier à cet inconvénient.

Davidsohn est arrivé à débarrasser les instruments de

tout germe pathogène en les maintenant pendant 5 minutes dans l'eau bouillante.

Inspiré par ces différents travaux, nous avons aussi institué une série d'expériences sur la désinfection des mains et de la matière sous-unguéale, dont voici les résultats.

1re Expérience. — De la dite matière sous et périunguéale est prise sous les ongles, sans lavage ni désinfection préalables, avec une lime à ongle flambée.

Elle est divisée en 10 parties qui sont placées dans les solutions à éprouver pendant 2 minutes.

Partie	I.	Contrôle mis dans un godet d'eau stérilisée.			
—	II.	Introduit dans un godet		$Hg\,Cl^2$	1 : 1.000.
—	III.	—	—	$Hg\,I^2$	1 : 1.000.
—	IV.	—	—	$Hg\,I^2$	1 : 5.000.
—	V.	—	—	$Si\,Fl^6\,Na^2$	5 : 1.000.
—	VI.	—	—	alcool absolu aussi pendant 2 minutes comme contrôle.	
—	VII.	2 minutes dans l'alcool absolu, puis 2 minutes dans le sublimé à 1 : 1.000.			
—	VIII.	2 minutes dans l'alcool absolu, puis 2 minutes dans $Hg\,I^2$ 1 : 1.000.			
—	IX.	2 minutes dans l'alcool absolu, puis 2 minutes dans $Hg\,I^2$ 1 : 5.000.			
—	X.	2 minutes dans l'alcool absolu et 2 minutes dans le $Si\,Fl^6\,Na^2$ 5 : 1.000.			

13 jours après, les nos I, V, IX et X donnent des résultats positifs.

Tous les tubes sont ensuite mis à l'étuve, et le quatrième jour tous les tubes restés limpides sont troubles, sauf le no IV qui est douteux. L'alcool n'a pas montré d'influence sur la rapidité de la désinfection, car l'infection s'est montrée comme si les morceaux n'avaient pas été traités par lui.

2e Expérience. — La matière sous-unguéale est prise comme suit. Un couteau, stérilisé dans la flamme, et trempé comme contrôle dans un godet de gélose, est passé dessous et autour des ongles; la matière ainsi recueillie est

mise dans un tube de gélatine, roulé d'après la méthode d'Esmarch. Cette opération est faite :

A Après un lavage superficiel sans désinfection ;

B Pour l'une des mains après lavage avec brosse et savon, et ensuite brossage et lavage dans le Hg Cl^2 à 1 : 1000 ;

C Pour l'autre main, comme en *B*, en intercalant un lavage à l'alcool absolu entre l'eau et le sublimé, selon le procédé de Fürbringer ;

D Après une première opération et un nouveau lavage complet.

La matière sous-unguéale a été prise chez M. le professeur Kocher et ses deux assistants, dans la salle d'opération même.

Deux morceaux d'éponges servant pour les opérations sont placés dans deux tubes de gélatine, qui restent absolument inaltérés.

Voici les résultats de ces recherches.

A *Après lavage superficiel :*

Professeur Kocher + 2 colonies (S'était déjà lavé les mains avec Hg Cl^2) ;
1er Assistant + S'était pourtant désinfecté auparavant ;
2e Assistant + Environ 100 colonies.

B *Après lavage dans le Hg Cl^2 avant opération :*

Professeur Kocher	avec alcool —	résultats négatifs ;
	sans alcool —	id.
1er Assistant	avec alcool —	id.
	sans alcool +	résultats positifs ;
2e Assistant	avec alcool —	résultats négatifs ;
	sans alcool —	id.

Après opération et lavage après désinfection :

Professeur Kocher — résultats négatifs
Id. Kocher — id.
1er Assistant + colonies liquéfiantes.

Les éprouvettes examinées le 28 novembre, c'est-à-dire 12 jours après, sont mises à l'étuve ; tous les contrôles sur gélose restent stériles.

3e *Expérience*. — On ouvre un abcès d'ostéomyélite, renfermant une multitude de *Micrococci* et *Staphylococci ;* et, après l'opération et le lavage de la plaie au $Hg\,Cl^2$, M. le Dr Tavel inocule un morceau de la dite plaie dans le tube *I*, qui devient positif et donne naissance à beaucoup de colonies de *Staph. aureus* (400 environ).

Puis, M. Kocher et son 1er assistant se lavent au savon et à la brosse, et l'on inocule de leur matière sous et périunguéale dans un tube *II* (Kocher) qui s'infeste à plusieurs endroits ; le tube *III* (1er assistant) montre 2 colonies.

Après désinfection des mains de M. Kocher dans le sublimé, comme d'habitude, j'inocule le tube *IV* (Kocher), main droite moins infectée (2 colonies) ; puis le tube *V* (Kocher), main gauche plus infectée (résultat positif).

Après désinfection des mains du 1er assistant dans l'alcool et le sublimé, on inocule le tube *VI* (1er assistant), qui donne quelques colonies (20).

On voit par ces expériences que la désinfection des mains, d'après la méthode de Kümmel ou de Fürbringer, n'est pas d'une sûreté absolue ; néanmoins, cette dernière donne de meilleurs résultats.

Le lavage avec la brosse et le savon seul est insuffisant. Après les opérations d'abcès, la désinfection complète est très difficile à obtenir. Enfin, le salufer doit être banni de la chirurgie.

Pour compléter notre travail nous avons à ajouter quelques remarques relatives à l'action des solutions antiseptiques, expérimentées ci-dessus, sur les instruments de chirurgie.

Dans ce but, nous nous sommes servi d'épingles et de pièces de monnaie que nous avons introduites directement dans le sublimé à 1 : 1000, dans le $Hg\,I^2$ à 1 : 1000 et dans le salufer à 5 : 1000. Une minute après, l'oxydation commence dans le sublimé, tandis que dans le biiodure et le salufer on ne remarque encore rien ; après 10 minutes, les épingles et pièces de monnaie sont recouvertes de Hg réduit, dans la solution de $Hg\,Cl^2$, tandis que dans le biiodure l'oxydation ne fait que commencer. Dans le salufer on ne remarque rien.

Après une heure de séjour dans le sublimé, tout est de-

venu noir ; dans le biiodure, il se forme un dépôt jaunâtre sur les objets immergés, qui disparaît très bien par la simple friction avec un linge. Dans le salufer on ne remarque encore rien.

M. le Dr Berlinerblau, chimiste à Berne, à qui nous avons demandé d'examiner l'effet des solutions de $Hg\,Cl^2$ et de $Hg\,I^2$ sur les instruments métalliques, nous a répondu ce qui suit : « Je me suis servi de deux pinces à forcipressure, dont l'une était nickelée. Après les avoir mouillées dans l'alcool, je les trempai dans le $Hg\,Cl^2$ et le $Hg\,I^2$ à 1 : 1000 et je pus constater, d'abord, que les deux instruments précipitent le mercure métallique des deux solutions employées; le mercure se dépose sur les instruments après un temps très court.

« Pour pouvoir apprécier la durée minimum nécessaire pour que l'instrument commence à se recouvrir de mercure, j'ai fait appel au fait connu, que le mercure métallique finement divisé, mélangé avec des vapeurs d'iode, donne un précipité jaune ou rouge qui, même sous forme de traces, est facilement reconnaissable par un examen attentif. A la suite d'une série d'expériences, j'ai trouvé que cette réaction commence comme suit :

		$Hg\,Cl^2$ 1 : 1000		$Hg\,I^2$ 1 : 1000
Pinces ordinaires	après	2 secondes	après	5 minutes;
» nickelées	»	10 à 15 secondes	»	10 minutes;

« Il s'ensuit : 1° Que les instruments ordinaires, non nickelés, se recouvrent plus vite de mercure métallique que ceux qui le sont ; 2° Que le mercure métallique provenant de la décomposition des solutions de biiodure mercurique se dépose plus lentement sur les instruments en question que sur ceux plongés dans les solutions de sublimé. Je dois faire remarquer que ces chiffres ne sont que proportionnels, car des instruments d'autre provenance et dimension donneraient probablement aussi d'autres résultats. »

Il résulte de ces différentes expériences que le biiodure de mercure à 1 : 1000 est préférable au sublimé pour la désinfection des instruments nickelés, car ce n'est qu'après 10 minutes qu'il commence à les altérer ; en outre, le biiodure qui agit sur les liquides infectieux aussi bien que

le bichlorure, agit néanmoins sur le fil moins rapidement et moins énergiquement que lui.

Le salufer, s'il était doué de propriétés antiseptiques meilleures, aurait, comme nous l'avons déjà dit, l'avantage d'être beaucoup moins toxique, et de ne pas altérer en solution à 5 : 1000 le poli des instruments.

§ IV. **Expériences sur la toxicité des trois sels considérés.**

Nous avons employé le sublimé, le biiodure de mercure et le $Si\,Fl^6\,Na^2$ en solution aqueuse ; les deux premiers, en solution à 1 : 1000 ; le dernier, à son maximum de solubilité dans l'eau, soit 5 : 1000.

Comme nous l'avons déjà dit, le biiodure était dissout dans l'eau à la faveur de l'iodure de potassium. Les solutions étaient introduites dans l'estomac à l'aide de la sonde œsophagienne, et hypodermiquement sur des cobayes et des lapins. Les animaux étaient pesés avant l'expérience, et la quantité injectée calculée par kilog. d'animal.

Les expériences sur la toxicité du salufer n'ont, à mon sû, pas encore été établies, et il était intéressant pour nous de contrôler sur les animaux sa toxicité comparée à celle du sublimé et du biiodure. Le but principal de ces recherches a été de fixer la dose toxique, sans s'inquiéter par trop des symptômes et des altérations pathologiques déjà connues et décrites par des auteurs compétents.

A. — Expériences avec le salufer.

Exp. I. — Lapin, taille moyenne, poids 1 Kg 160. Injection hypodermique 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» II. — Lapin d'assez forte taille, 2 Kg 160. Inj. intrastomacale, 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» III. — Cobaye, 530 gr. Inj. hypodermique, 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

Exp. IV. — Cobaye, 625 gr. Inj. intrastomacale 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» V. — Lapin 1 Kg 800. Inj. intrastomacale 0.01 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» VI. — Lapin 2 Kg 50. Inj. hypodermique 0.01 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» VII. — Cobaye 430 gr. Inj. intrastomacale 0.01 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» VIII. — Cobaye 430 gr. Inj. hypodermique 0.01 par Kg d'animal.

Mort 10 jours après l'injection. Poids 300 gr. Autopsie : Reins légèrement hyperhémiés, albuminurie, organes pâles, rien de particulier.

» IX. — Petit lapin gris 780 gr. Inj. intrastomacale 0.10 par Kg d'animal.

Mort 10 jours après, à la suite d'une diarrhée contractée déjà avant l'expérience. Poids 630 gr., soit une diminution de 150 gr. A part une hyperhémie de l'intestin grêle, on ne constate rien autre de particulier à l'autopsie.

» X. — Lapin gris 960 gr. Inj. hypodermique 0.10 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» XI. — Cobaye 420 gr. Inj. intrastomacale 0.10 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» XII. — Cobaye 680 gr. Inj. hypodermique 0.10 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» XIII. — Cobaye jaune 410 gr. Inj. intrastomacale 1 gr. par Kg d'animal. — Mort le lendemain.

Comme le salufer n'est soluble dans l'eau qu'en solution ne dépassant pas 5 : 1000, nous avons été obligé d'administrer ce sel à l'état cristallin, en le mélangeant avec de la mie de pain et de la glycérine ; sans cela, il nous aurait été impossible d'injecter toute la quantité d'eau nécessaire pour le dissoudre.

Diarrhée. Poids 405 gr. Autopsie : Muqueuse stomacale hyperhémiée dans son grand cul de sac. Reins enflammés, néphrite parenchymateuse. Pas d'urine dans la vessie.

» XIV. — Lapin blanc 1 Kg 820. Inj. intrastomacale 1 gr. par Kg d'animal. — Mort le lendemain.

Diarrhée. Poids 1 Kg 770 gr., soit une diminu-

tion de 50 gr. en un jour. Néphrite parenchymateuse. Estomac hyperhémié. Pas d'urine dans la vessie.

Il nous a été impossible de faire des injections hypodermiques, car le salufer exige une trop grande quantité d'eau pour se dissoudre; nous avons néanmoins essayé d'en injecter une émulsion glycérinée, mais sans réussir, car le sel oblitérait toujours la lumière de l'aiguille.

B. — Expériences avec le biiodure de mercure.

On s'est servi d'une solution aqueuse à 1 : 1000.

Exp. I. — Lapin gris 1 Kg 10. Inj. hypodermique 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» II. — Petit lapin gris 960 gr. Inj. intrastomacale 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» III. — Cobaye 640 gr. Inj. hypodermique 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» IV. — Cobaye 610 gr. Inj. intrastomacale 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» V. — Lapin blanc 1 Kg 460. Inj. intrastomacale 0.01 par Kg d'aninal. — Diarrhée, maigrit, mais survit.

» VI. — Lapin 860 gr. Inj. hypodermique 0.01 par Kg d'animal. — Maigrit, mais survit.

» VII. — Cobaye 550 gr. Inj. hypodermique 0.01 par Kg d'animal. — Effets nuls.

L'animal mourut 9 jours après, à la suite d'une gangrène de la peau à l'endroit injecté, suppuration, et perforation de la paroi abdominale.

» VIII. — Cobaye 580 gr. Inj. intrastomacale 0.01 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» IX. — Cobaye 750 gr. Inj. intrastomacale 0.05 par Kg d'animal. Diarrhée. Inappétence. Mort trois jours après. Poids 680 gr. Inflammation de l'intestin grêle avec quelques taches ecchymotiques: reins enflammés, toutes les lésions décrites par M. le prof. Prévost, dans la *Revue médicale de la Suisse romande* (années 1883-1884).

Les coupes du rein, d'abord opaques, deviennent parfaitement claires lorsqu'on les traite sous le microscope par l'acide acétique ou chlorhydrique,

et des bulles de gaz CO^2 apparaissent aussitôt en tous points de la préparation ; avec l'acide sulfurique il se forme, outre le dégagement de CO^2, des cristaux parfaitement nets de sulfate de chaux.

Exp. X. — Cobaye 650 gr. Inj. hypodermique 0.05 par Kg d'animal. Le lendemain, il est abattu, titube quand on le force à marcher. Diarrhée. Mort à midi. Poids 610 gr., soit une diminution de 40 gr. Autopsie : hyperhémie de l'intestin grêle, urines albumineuses, reins enflammés.

Oedème sous-cutané à l'endroit injecté.

» XI. — Lapin gris. Poids 880 gr. Inj. intrastomacale 0.05 par Kg d'animal. Mort 3 jours après. Poids 690 gr., soit une diminution de 190 gr. Diarrhée. Lésions décrites par M. le prof. Prévost.

» XII. — Lapin gris 1 Kg 20. Inj. hypodermique 0.05 par Kg d'animal. Mort le lendemain. Diarrhée. Poids 940 gr., soit une diminution de 80 gr. en un jour. Intestin grêle fortement hyperhémié, reins enflammés, albuminurie assez forte.

C. — Expériences avec le $HgCl^2$ en solution aqueuse à 1 : 1.000.

Exp. I. — Lapin. Poids 1 Kg 650. Inj. hypodermique 0.01 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» II. — Gros lapin gris 2 Kg 160. Inj. intrastomacale 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» III. — Cobayes 625 gr. Inj. intrastomacale 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» IV. — Cobaye 530 gr. Inj. hypodermique 0.001 par Kg d'animal. — Effets nuls.

» V. — Lapin 555 gr. Inj. hypodermique 0.01 par Kg d'animal. Mort 2 jours après. Poids 430 gr., soit une diminution de 125 gr. Autopsie : hyperhémie de l'intestin grêle et des reins, albuminurie.

» VI. — Lapin. Poids 2 Kg 55. Inj. intrastomacale 00.1 par Kg d'animal. — Effets presque nuls.

» VII. — Lapin 1 Kg 670. Inj. hypodermique 0.01 par Kg d'animal. Mort le lendemain. Poids 1 Kg 650. Diminution 20 gr. Autopsie : lésions sus-mentionnées de l'intoxication mercurielle. Oedème sous-cutané à l'endroit injecté.

Exp. VIII. — Cobaye 700 gr. Inj. hypodermique 0.01 par Kg d'animal. Mort le lendemain. Poids 680 gr., soit 20 gr. de diminution. Lésions mentionnées ci-dessus.

» IX. — Cobaye 535 gr. Inj. intrastomacale 0.01 par Kg d'animal. Un peu de diarrhée et d'inappétence. Survit néanmoins.

» X. — Cobaye 600 gr. Inj. intrastomacale 0.05 par Kg d'animal. Mort le lendemain. Poids 590 gr. Ascite, pas d'urine dans la vessie. Lésions Prévost.

» XI. — Cobaye 638 gr. Inj. hypodermique 0.05 par Kg d'animal. Le lendemain, l'animal ne mange pas, il a de la diarrhée, à midi, il est mort après quelqnes secousses convulsives. Poids 587 gr., soit une diminution de 41 gr. Oedème à l'endroit injecté. Lésions ordinaires.

» XII. -- Lapin blanc 1 Kg 400. Inj. intrastomacale 0.05 par Kg d'animal. Diarrhée, titubation, tremblement. Mort 4 jours après. Poids 1 Kg 130. Lésions Prévost, deux ecchymoses intestinales et une dans la vessie.

Un tableau comparatif des doses toxiques de ces trois substances aura l'avantage de présenter au simple coup d'œil le résultat de nos expériences. Le signe + signifie mort et le signe — resté vivant.

	$Si\,Fl^6\,Na^2$				$Hg\,I^2$				$Hg\,Cl^2$			
Doses injectées	Cobayes		Lapins		Cobayes		Lapins		Cobayes		Lapins	
par Kg d'animal	Hypod.	Stomac.	Hypod.	Stomac.	Hypod.	Stomac.	Hypod.	Stomac.	Hypod.	Stomac.	Hypod.	Stomac.
0.001	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.01	+(2)	—	—	—	+(1)	—	+	—	+	—	+	—
0.05	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
0.10	—	—	—	+								
1.0		+		+								

(1) Voir Exp. VII. Mort accidentelle.

(2) Ici la mort ne peut pas être attribuée au salufer, mais plutôt à une infection.

Il résulte de ces expériences que l'injection hypodermique de biiodure ou de bichlorure de mercure agit beaucoup plus rapidement que l'injection intrastomacale, ce qui était à prévoir; sous l'influence de cette dernière, les mêmes doses toxiques laissent une survivance plus grande; le biiodure agit aussi plus lentement que le bichlorure, bien qu'administré aux mêmes doses; ceci peut s'expliquer par la présence d'iodure, agent éliminateur.

Enfin l'injection intrastomacale a laissé survivre des animaux qui mouraient avec la même quantité de poison injectée hypodermiquement.

En ce qui concerne le salufer, il faut arriver à la dose d'un gramme par kg d'animal pour amener sûrement la mort. L'effet de ce sel se fait surtout sentir sur les reins qui présentent les lésions de la néphrite parenchymateuse et sur l'intestin grêle qui présente les signes d'une entérite catarrhale.



REVUES ET ANALYSES[1]

De l'origine microbienne du tétanos
(Revue critique)

CARLE et RATTONE. — *Studio sull' eziologia del tetano* (*Giorn. della R. Acad. di medicina di Torino,* marzo 1884).

A. NICOLAIER. — *Beiträge zur Aetiologie des Wundstarrkrampfes* (*Inaug. Dissert. Göttingen,* 1885).

J. ROSENBACH. — *Zur Aetiologie des Wundstarrkrampfes beim Menschen* (*Archiv für klin. Chirurgie,* Bd XXXIV, 2, p. 306).

BEUMER. — *Zur Aetiologie des Trismus sive tetanus neonatorum* (*Zeitschrift für Hygiene,* III, p. 242).

BRIEGER. — *Zur Kenntniss der Aetiologie des Wundstarrkrampfes* (*Berl. Klin. Wochenschrift,* 1887, N° 17, et *Deutche med. Wochenschrift,* 1887, N° 15).

HOCHSINGER. — *Zur Aetiologie des menschlichen Wundstarrkrampfes* (*Centralbl. für Bact. u. Parasit.,* II, p. 145 et 177).

Dr JOH-RAUM. — *Zur Aetiologie des Tetanus* (*Zeitschrift für Hygiene,* V, 3, p. 509).

Dr WIDENMANN. — *Beitrag zur Aetiologie des Wundstarrkrampfes* (*Zeitschrift für Hygiene,* V, 3, p. 522).

SHAKESPEARE, Edw. O. — *Preliminary report of experimental researches concerning the infectious nature of traumatic tetanus,* et *Centralb. für Bact. u. Parasit.,* II, p. 541.

J. LAMPIASI. — *Ricerche sull' etiologia del tetano* (*Giornale internaz. delle Scienze mediche,* X, 11, p. 852).

L'opinion d'après laquelle il faut voir dans le tétanos une maladie infectieuse n'est pas nouvelle, et de nombreux expérimentateurs l'ont émise il y a nombre d'années déjà, parmi lesquels on peut citer Heiberg, Roser, Griesinger, Thompson, Spencer Wells, Billroth, v. Bergmann, Rose, Neudorfer, Strümpell et d'autres encore. Mais ce n'est guère que grâce aux progrès réalisés ces dernières années en bactériologie, que l'origine infectieuse de cette maladie a pu être établie expérimentalement. Cependant, ainsi que nous le verrons, il s'en faut encore beaucoup que l'étio-

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

logie du tétanos soit complètement élucidée et que ce mal ait livré tous ses secrets. Il paraît probable, il est vrai, qu'il est causé par un microbe, et d'aucuns croient même le connaître; toutefois, que de lacunes encore à combler avant que la certitude soit acquise! Néanmoins, les travaux parus jusqu'ici sur l'étiologie du tétanos sont assez sérieux et ont déjà conduit à des résultats assez importants pour qu'il soit utile de les résumer ici. Il est bon de temps à autre de s'arrêter en route pour jeter un coup d'œil rétrospectif sur les étapes parcourues; la voie à suivre devient ainsi plus claire, et le temps employé à étudier les travaux des devanciers n'est pas toujours perdu.

MM. Carle et Rattone sont, croyons-nous, les premiers qui ont réussi, en 1884, à reproduire expérimentalement le tétanos d'une façon péremptoire en inoculant à des lapins des matières provenant du cadavre d'un homme mort du tétanos. Une pustule d'acné ayant semblé, dans ce cas, avoir été la porte de l'infection, ces expérimentateurs inoculèrent le contenu de la pustule; sur 12 lapins inoculés, 11 succombèrent au tétanos. Ils réussirent également à transmettre le tétanos d'animal à animal par les mêmes procédés. L'origine infectieuse du tétanos était ainsi prouvée, bien que son agent restât inconnu.

Un an plus tard parut le travail de M. Nicolaier, qui devint la source de toutes les recherches bactériologiques subséquentes. En faisant des recherches sur les microorganismes du sol, ce savant était arrivé au résultat assez inattendu que les souris, cobayes et lapins inoculés avec de la terre, contractaient fréquemment un tétanos parfaitement caractérisé. En continuant les expériences avec des terres de provenances diverses, M. Nicolaier obtint les mêmes résultats : un certain nombre d'animaux mouraient de septicémies ou restaient indemnes, et les autres succombaient au tétanos. Le chauffage à 190° enleva à la terre sa virulence, ce qui démontra que l'infection était due à un contage vivant; celui-ci doit, en même temps, être fort répandu, car, sur 18 échantillons de terre inoculés, 12 se montrèrent infectieux. Dans le pus qui se forme à l'endroit de l'inoculation, M. Nicolaier trouva constamment, au milieu d'organismes les plus divers, un bacille particulier, un peu plus long, mais un peu moins large que les bacilles de la septicémie des souris, et présentant cette particularité qu'il ne forme qu'une seule spore, d'un diamètre un peu plus fort que le corps du bacille, à l'un de ses bouts, ce qui le fait ressembler à une épingle. Dans les organes et dans le sang, M. Nicolaier ne le vit pas; dans la moelle, il ne l'aperçut que deux fois, et seulement quelques exemplaires isolés. Toutes ses tentatives pour cultiver ce bacille

à l'état de pureté restèrent infructueuses. Il en obtint, par contre, des cultures impures sur sérum de sang, mais actives encore, car, inoculées aux animaux, elles reproduisaient le tétanos.

M. Rosenbach parvint à donner, comme MM. Carle et Rattone, le tétanos à des animaux, en leur inoculant des morceaux de peau excisés sur la limite de démarcation d'une gangrène de la cuisse survenue chez un homme, et à laquelle avait succédé un tétanos mortel. Il retrouva, en outre, dans les matières inoculées, le même bacille que M. Nicolaier. Les inoculations qu'il pratiqua avec les organes des animaux tétaniques restèrent toutes sans effet, et, dans la moelle, il ne trouva aussi que deux fois quelques exemplaires isolés du microbe. Il lui fut également impossible d'obtenir des cultures pures, bien qu'il eût réussi, par différents procédés de culture, à les purifier et à arriver à des cultures composées du dit bacille et d'un gros bacille saprophyte ; mais tous les essais faits pour séparer ces deux organismes restèrent vains. M. Rosenbach attribua cet insuccès au fait que les bacilles du tétanos seraient anaérobies. En admettant que le bacille en question soit bien l'agent du tétanos, M. Rosenbach aurait, en le retrouvant chez l'homme, fourni la preuve que le tétanos chez celui-ci est également provoqué par le bacille de la terre de Nicolaier.

Les résultats obtenus par M. Rosenbach furent confirmés par M. Beumer qui, dans 3 cas de tétanos humain, eut l'occasion de faire les mêmes observations. Le dernier cas, concernant un nouveau-né chez lequel l'infection s'était produite par le cordon ombilical, est particulièrement intéressant, parce qu'il fournit la preuve que le tétanos des nouveaux-nés est identique avec le tétanos expérimental de Nicolaier. Ainsi que ses prédécesseurs, M. Beumer réussit à donner le tétanos aux animaux d'expérience, en leur inoculant sous la peau de petites parcelles du tissu excisé dans le voisinage de la plaie ombilicale. Il trouva également dans les préparations microscopiques faites avec le suc des tissus de la plaie un bacille paraissant être celui de Nicolaier, et il obtint des cultures infectieuses en ensemençant ce suc sur du sérum de sang. Comme d'habitude, les cultures étaient impures, et il parvint, en les chauffant, d'après un procédé indiqué par M. Flügge, pendant 5 minutes à 100°, à éliminer les micrococcus et à obtenir finalement des cultures actives composées de deux espèces de bacilles, dont l'un, qui liquéfie le sérum en le putréfiant, peut facilement être isolé, mais se montre absolument inoffensif, tandis qu'il fut impossible d'obtenir des cultures pures du second qui, lui, serait l'agent du tétanos. M. Beumer explique ce fait en admettant, comme M. Rosenbach l'avait déjà fait, que les

bacilles du tétanos ne croissent que dans un milieu particulier, déjà modifié par les organismes de la putréfaction.

Le travail plus récent de M. le Dr Raum aboutit aux mêmes résultats : production du tétanos par des inoculations de terre et présence constante dans le pus des bacilles de Nicolaier. D'après les expérimentateurs dont nous venons de résumer brièvement les travaux, on trouverait donc dans le pus tétanique un microbe spécial, que l'on ne retrouve, semble-t-il, ni dans le sang, ni dans les organes, car les rares cas où l'on a cru le voir dans la moelle ne sont pas assez probants.

Ces expérimentateurs admettent que le microbe du tétanos pullule seulement dans la plaie et son voisinage immédiat, et que les accidents tétaniques sont provoqués par les ptomaïnes qu'il secrète. Cette manière de voir trouve un appui dans les expériences de M. Brieger, qui a réussi à isoler des cultures tétaniques une toxine, qu'il a appelée « tétanine » et qui, inoculée même à faible dose à des souris, les fait mourir avec les symptômes tétaniques. M. Brieger y a trouvé, en outre, d'autres ptomaïnes, produisant des effets analogues, la tétanotoxine, la spasmotoxine ainsi qu'un chlorhydrate à base de toxine. Plus récemment encore, M. Brieger a pu extraire cette toxine du bras d'un homme mort du tétanos.

M. Hochsinger, par contre, croit avoir été plus heureux dans ses essais de culture. Ayant eu l'occasion de soigner un cas de tétanos humain survenu chez un ouvrier qui, dans une chute qu'il avait faite en charriant de la terre, s'était écorché la main, il avait commencé par ensemencer et inoculer du sang recueilli chez le malade encore pendant la vie. Le sang inoculé à un lapin lui donna le tétanos; toutefois, comme la quantité de sang injectée était assez forte (1/2 seringue Pravaz), il n'est pas impossible, croyons-nous, qu'il y ait eu là non pas infection, mais intoxication par la tétanine contenue dans le sang. M. Nicolaier avait aussi quelquefois, mais non toujours, réussi à provoquer le tétanos par l'inoculation de grandes quantités de fragments des organes; nous pensons que là, également, il y a eu intoxication.

Les ensemencements, au contraire, du sang dans deux tubes de sérum, paraissent avoir donné des résultats plus positifs, car M. Hochsinger constata, après 2 jours d'incubation, un trouble blanchâtre du liquide de condensation, dans lequel le microscope décela la présence de bacilles ténus, d'une longueur de 0,8 à 1,2μ, et présentant parfois la forme d'épingles, décrite par MM. Rosenbach et Nicolaier : les cultures semblèrent, toutefois, ne végéter qu'avec peine, et M. Hochsinger ne réussit pas à leur faire faire

souche. Sur 6 tubes frais inoculés avec ces cultures, un seul montra un très faible développement qui resta bientôt stationnaire et ne donna plus de nouvelle culture. M. Hochsinger l'attribue à ce que le bacille serait anaérobie; cependant, en remplissant les tubes inoculés avec de la gélose pour empêcher l'accès de l'air, les résultats restèrent les mêmes. Les deux cultures primitives, de même que la seule culture obtenue en seconde génération, se montrèrent infectieuses et donnèrent le tétanos aux animaux d'expérience. En revanche, M. Hochsinger ne put réussir à obtenir des cultures de son bacille en ensemençant le sang des animaux morts du tétanos.

Dans le pus, M. Hochsinger vit des bacilles de mêmes dimensions que ceux trouvés dans les cultures du sang; dans les cultures qu'il en fit, il les retrouva aussi, sans réussir toutefois à les isoler; mais les cultures se montrèrent, cette fois, inactives. M. Hochsinger pense que l'impureté des cultures en avait atténué la virulence. Il y a là, cependant, quelque chose d'assez surprenant, car on se rappelle que d'autres expérimentateurs ont, précisément, obtenu des résultats positifs avec ces cultures impures, contenant le bacille de Nicolaier.

Ces résultats contradictoires sont donc faits pour inspirer quelques doutes au sujet de la spécificité des soi-disant bacilles du tétanos, qui pourraient bien n'avoir été que des hôtes accidentels des cultures qui se sont montrées infectieuses. Les cultures de M. Hochsinger ne montraient, il est vrai, dans les préparations colorées, qu'une seule espèce d'organismes, des bacilles paraissant identiques à ceux de Nicolaier; mais est-on sûr que les cultures n'aient pas contenu, en outre, un autre agent infectieux que les procédés de coloration employés n'auraient pas réussi à décéler. Il semble aussi que M. Hochsinger eût dû retrouver son bacille dans le sang des animaux inoculés, puisqu'il se trouvait dans le sang du malade. Un des travaux les plus récents sur le tétanos, celui de M. le Dr Widenmann, vient encore renforcer ces doutes. Le cas de tétanos mortel, qui a servi aux expériences de M. Widenmann, avait été causé chez un jeune garçon par une écharde ayant pénétré dans la joue, à la suite d'une chute sur un échalas. Ajoutons, à titre de renseignement, que la terre de la vigne, où se trouvait l'échalas, avait été fumée avec du fumier de cheval, fait dont on pourrait tirer quelque argument en faveur de l'origine équine du tétanos. Les souris inoculées avec des fragments de l'écharde, succombèrent à un tétanos particulièrement rapide. Mais, dans le pus formé au lieu d'inoculation de ces fragments, M. Widenmann trouva surtout des microcoques et de gros bacilles,

et pas une seule fois les bacilles en forme d'épingle, et pourtant ce pus était aussi infectieux, car, inoculé aux souris, il leur donnait le tétanos. Aucunes bactéries ne furent trouvées ni dans le sang, ni dans les organes internes. Dans une seconde série d'inoculations faites avec de la terre, par contre, et ayant aussi provoqué le tétanos, le pus se trouva contenir, entre autres microorganismes, le bacille de Nicolaier. M. Widenmann en conclut que ces derniers sont de vulgaires bacilles habitant la terre, et que l'agent infectieux du tétanos est encore à trouver. Dans une note accompagnant le mémoire de M. Widenmann, M. le professeur Flügge dit également avoir expérimenté avec une terre qui donnait le tétanos, sans que l'on retrouvât ces fameux bacilles dans le pus, et, d'autre part, M. Wysstokowitsch doit avoir eu entre les mains une terre provoquant une suppuration accompagnée de ce bacille, sans que jamais le tétanos s'ensuivît.

A ces faits, je puis ajouter des observations qui m'ont été communiquées par M. le Dr Tavel, et dont il résulte que, dans cinq cas de tétanos humain, il n'a jamais, non plus, pu constater la présence du bacille tétanique de Nicolaier, pas plus que dans le pus des souris et des cobayes inoculés par lui dans ses expériences.

De notre côté, nous avons entrepris, de concert avec M. le professeur Guillebeau, une série d'expériences sur le tétanos, qui sont encore loin d'être terminées, mais qui confirment, en partie, quelques-uns des faits relatés plus haut. Nous croyons, en particulier, pouvoir considérer comme acquis les points suivants :

1. Les inoculations de terre, dans une poche sous-cutanée, confèrent très fréquemment le tétanos aux animaux d'expérience. Avec la terre que nous employons, nous sommes presque sûrs, en inoculant simultanément 5 à 6 animaux, d'en voir au moins un mourir du tétanos.

2. Le pus récolté dans la poche, ainsi que les parois de cette dernière sont infectieux et donnent le tétanos au bout de 2 à 3 jours après l'inoculation. Quand les matières sont desséchées depuis plusieurs semaines, l'incubation peut se prolonger de 2 ou de 3 jours.

3. Dans le pus, nous avons vu tantôt une foule de microorganismes, parmi lesquels aussi les bacilles de Nicolaier; tantôt, en revanche, un nombre fort peu considérable de microbes, et très souvent aussi, l'examen microscopique n'a décelé ni bacilles de Nicolaier, ni aucune autre espèce de bactéries, et pourtant ce dernier pus était tout aussi infectieux que celui plus riche en microorganismes.

4. Dans le sang et dans la rate, le foie, le rein et la moelle,

nous n'avons pas trouvé d'organismes, et les ensemencements que nous en avons faits sont restés stériles ou n'ont donné lieu qu'à des infections fortuites. Quelquefois aussi, les microorganismes qui ont pullulé dans la plaie d'inoculation passent dans la circulation ; on les retrouve alors dans le sang ou les organes. Nous reviendrons sur ce point en parlant du travail de M. Lampiasi. Les inoculations de sang et de fragments d'organes aux animaux ne nous ont donné que des résultats négatifs (moelle, nerfs, etc.). Nos résultats concordent donc entièrement, sur ce point, avec ceux obtenus par M. Nocard. (*Semaine médicale* du 13 février 1889).

5. Les ensemencements de pus et de fragments des parois de la poche sur du sérum de sang, donnent généralement lieu à une pullulation active de microorganismes, amenant la liquéfaction du sérum, avec dégagement d'une odeur repoussante. Quelques-unes de ces cultures sont infectieuses, les autres sont inoffensives ; les cultures ne contenant que des micrococcus, ou ne dégageant pas d'odeur fétide, ont toujours été inactives. Mais, comme les autres expérimentateurs, nous n'avous pas réussi à isoler un organisme qui, inoculé seul, ait produit le tétanos. Nous n'avons pas non plus été plus heureux en faisant les cultures à l'abri de l'air. Les cultures actives renfermaient jusqu'ici toujours divers organismes, parmi lesquels nous avons toujours trouvé un bacille répondant à la description de Nicolaier. Rosenbach et Beumer ayant émis l'idée que les bacilles de la putréfaction favorisent l'éclosion du bacille tétanique, nous avons, pour nos cultures, employé aussi des bouillons putréfiés et filtrés à la bougie Chamberland. Jusqu'ici, toutefois, ce procédé ne nous a pas donné de résultats positifs.

6. Les cultures impures et actives peuvent être inoculées par la voie sous-cutanée (une anse d'un fil de platine chargée de culture et poussée sous la peau ; une simple piqûre, par contre, avec une aiguille plongée dans la culture, n'a pas donné le tétanos à un cobaye) ou par injection intra-veineuse (diluée dans du bouillon stérilisé). Dans ce dernier cas, le tétanos n'apparaît qu'au bout de 4 à 5 jours et l'on ne trouve, à l'autopsie, aucune lésion. De même, quand on inocule avec la seringue Pravaz une culture très diluée sous la peau, la mort survient quelquefois sans production de pus ni de lésion quelconques. Nous avons réussi à obtenir plusieurs générations de nos cultures virulentes, mais les cultures semblent perdre leur virulence au bout de peu de temps.

Tels sont, brièvement exposés, les résultats que nous avons obtenus ; on voit que, malheureusement, ils ne tranchent pas définitivement la question du rôle joué, dans la production du tétanos, par le bacille de Nicolaier, puisque, d'une part, il manque fré-

quemment dans le pus, mais que, d'autre part, il semblait se trouver dans nos cultures actives.

Il nous resterait, pour être complet, à parler des travaux de M. Shakespeare et de M. Lampiasi. Le premier doit avoir réussi à donner le tétanos à ses animaux d'expérience, en leur inoculant la moelle d'animaux tétaniques sous la dure-mère; il aurait, en outre, constaté un renforcement du virus par le passage de lapin à lapin. Les conclusions de M. Shakespeare sont, toutefois, en contradiction si flagrante avec les résultats obtenus par tous les autres expérimentateurs, qu'il nous est impossible de les admettre sans qu'elles aient été sérieusement contrôlées. M. Shakespeare lui-même a publié ces observations dans un « rapport préliminaire » datant de 1887. Or, depuis cette époque, rien, de sa part, n'est venu confirmer sa découverte.

Le travail de M. J. Lampiasi est plus récent. Les sujets qui ont servi de point de depart à ses expériences étaient un homme et deux mulets atteints de tétanos. En cultivant leur sang, l'auteur obtint des cultures d'un bacille aérobie caractéristique, long de 2,5-4μ et large de 1,0μ et formant de très grosses spores. M. Lampiasi en donne même des dessins très réussis, mais qui ne nous laissent aucun doute sur la nature saprophyte de ce bacille, que nous avons rencontré fréquemment dans nos cultures, et qui ne nous paraît posséder aucunes propriétés tétaniques. Comme M. Lampiasi n'a pas vu éclore ce bacille dans tous les tubes ensemencés, il nous paraît probable qu'il s'agit d'un organisme qui avait passé de la plaie dans le torrent circulatoire, chose que nous avons vue arriver parfois dans nos expériences. Il est vrai que, sur 65 animaux inoculés avec ce bacille, 27 prirent le tétanos, mais il faut ajouter aussi que 12 guérirent de ce tétanos, et que 12 autres animaux succombèrent à une infection non accompagnée de symptômes tétaniques, tandis que 16 n'accusèrent aucun symptôme de maladie. Nous laisserons donc à M. Lampiasi le soin d'expliquer comment certains de ses animaux ont pris le tétanos, mais, quant à nous, il nous paraît évident que son bacille n'est pas l'agent du tétanos, puisque parfois il donne une septicémie et que, plus souvent encore, il est absolument inoffensif.

De ce qui précède, il résulte que l'agent tétanique est encore à trouver. C'est un microbe, sans doute, puisque on en a obtenu des cultures, même de seconde génération ; mais il semble, jusqu'ici, ne pas être facilement cultivable sur les milieux nutritifs employés. Il reste, en particulier, plus qu'incertain si le bacille de Nicolaier est la cause du tétanos, ainsi qu'on l'a cru jusqu'à ces derniers temps. C'est un point qui ne pourra être élucidé que quand on aura réussi à l'isoler d'une façon certaine.

E. F.

M.-W. Khawkine. — **Le principe de l'hérédité et les lois de la mécanique en application à la morphologie de cellules solitaires.** (*Arch. de Zool. expérim.*, 2me série, t. VI. 1888).

L'auteur s'est attaché à démontrer que les modifications de formes que l'on observe chez le *Paramœcium aurelia,* depuis l'instant où l'individu formé par scissiparité a la forme d'un solide de révolution, d'un œuf, jusqu'à celui où il se creuse d'un sillon, proviennent uniquement d'une cause mécanique. Par une série d'expériences ingénieuses, M. Khawkine a d'abord constaté que la pression produite sur les parois du corps par les cils en mouvement est supérieure à la tension intérieure qui tend à donner à ce corps une forme régulière. Puis, cette pression étant démontrée, il s'appuie sur le fait que les cils adoraux sont plus forts que tous ceux du reste du corps, pour conclure que le sillon adoral est dû à la pression naturellement plus grande sur cette région. Il oppose cette théorie à celle de Schuberg, qui voit dans la formation du péristome chez la *Bursaria truncatella* un simple fait ontogénétique. « Tous ces principes, dit-il, malgré toute leur grande importance pour la science, sont soumis tous au même sort, ils subsistent jusqu'à ce qu'on les remplace par leur contenu réel physico-mécanique ; après cela, ils sont remis dans les Archives de l'histoire. »

En terminant, l'auteur conclut, avec raison, que nous devons chercher dans les êtres inférieurs l'explication des faits à l'aide des lois élémentaires de la nature.

F. D.

Geza Entz. — **Sur la présence, dans le sang de l'***Apus cancriformis,* **d'une espèce de** *Nyctotherus* (*Zoologischer Anzeiger*, 1888, n° 292, 5 novembre, p. 618-620).

En examinant des *Apus* conservés depuis plusieurs mois dans l'alcool, le professeur Geza Entz a observé sur plusieurs individus de véritables embolies causées dans les branchies par des masses solides qui s'y étaient arrêtées, en y formant une véritable injection naturelle. L'examen microscopique montra que ces masses étaient composées de nombreux individus d'une forme particulière d'Infusoires hétérotriches appartenant au genre *Nyctotherus.* Leidy. L'auteur nomme cette espèce *N. hœmatobius.*

Les contours généraux, la disposition de la bouche et du péristome, de l'anus, sont exactement les mêmes que chez le *N. cordi-*

formis, parasite de la grenouille, mais la forme et la position du noyau différencient immédiatement les deux espèces.

Tandis que chez le parasite de la grenouille le noyau a la forme d'un boudin recourbé avec un nucléole dans sa partie concave, et situé dans la portion antérieure du corps, chez le parasite de l'*Apus,* il est sphérique, muni d'un nucléole latéral et se trouve le plus souvent dans la région postérieure de l'Individu.

La longueur des grands individus est de 0,07mm environ, mais on trouve aussi des individus nains qui ne mesurent pas plus de 0,03mm. L'auteur a observé de nombreux individus en division, mais jamais d'enkystement.

Le *N. hœmatobius* paraît se nourrir des éléments du sang de son hôte.

F. D.

ALI COHEN, Ch. H. — **Le Bacille typhique, recherches expérimentales et critiques.** (*De Typhus-Bacile, etc.*, Groningen (Volters), 1888).

L'auteur nous donne, dans le présent travail — sa thèse doctorale, — une excellente monographie du bacille typhique. L'analyser en détail dépasserait les limites que nous devons nous imposer ; aussi, nous contenterons-nous de relever seulement quelques faits importants ou nouveaux signalés par M. Ali Cohen. Un premier chapitre traite de la morphologie et de la biologie du bacille. Relativement aux cultures sur pommes de terre, si caractéristiques pour ce micro-organisme, M. Ali Cohen fait remarquer que le bacille typhique peut croître sur la pomme de terre de qnatre manières différentes :

1° La culture est invisible macroscopiquement et s'étend sur toute la surface ;

2° La culture est visible macroscopiquement sur toute la surface ;

3° La culture est visible macroscopiquement et se borne au centre de la tranche de pomme de terre ;

4° La partie visible macroscopiquement reste bornée au centre, mais des ramifications invisibles de bacilles gagnent la périphérie.

L'auteur ne considère comme absolument caractéristique que le premier mode de croissance, attendu que d'autres organismes peuvent aussi présenter l'aspect décrit aux nos 2 et 3. En conséquence, l'auteur émet quelques doutes au sujet de l'identité des bacilles trouvés dans l'eau et considérés par quelques auteurs comme des bacilles typhiques.

En ce qui concerne les spores, M. Ali Cohen n'a pas pu se convaincre de la présence de véritables spores (endogènes) dans les bacilles typhiques.

Dans le deuxième chapitre, l'auteur traite de la valeur des bacilles au point de vue du diagnostic. Nous relevons ici qu'il les a constamment retrouvés dans la rate de personnes mortes du typhus abdominal, tandis qu'ils faisaient régulièrement défaut dans le cas de typhus exanthématique. Ceci trancherait la question de l'identité ou de la non-identité de ces deux maladies que quelques cliniciens considèrent encore comme pendante, sinon comme tranchée dans le sens de l'identité.

L'auteur a fait aussi quelques recherches sur le typhus pétéchial, et a trouvé dans la rate des individus ayant succombé à cette maladie, un bacille spécial. Il s'abstient toutefois de se prononcer définitivement sur son importance au point de vue de l'étiologie.

M. Ali Cohen termine son travail par l'étude de l'action pathogène du bacille typhique sur les animaux. Il arrive à la conclusion que le bacille typhique ne prolifère pas dans le corps des animaux d'expérience. Les animaux qui périssent à la suite de l'injection des cultures, succombent à une intoxication due aux ptomaines sécrétées par le microbe. Toutefois, la production de ptomaines dans les cultures n'est pas un phénomène constant; dans ce cas, l'injection des cultures ne produit pas d'effet; aussi, M. Ali Cohen n'est-il pas disposé à admettre que cela soit par la sécrétion de ptomaines que le bacille typhique exerce son action pathogène sur l'homme.

E. F.

Dr L. Manfredi et G. Traversa. — **Sur l'action physiologique et toxique des produits de culture du *Streptococcus* de l'érysipèle** (*Giornale internazionale delle Scienze mediche*, 1888, fasc. 6, p. 456).

Dans cette contribution à l'étude du rôle que jouent, dans la pathogénèse des maladies infectieuses, les produits solubles élaborés par les microbes pathogènes, les auteurs étudient spécialement l'action des produits de cultures du *Streptococcus* de l'érysipèle. Dans de semblables recherches, il y a deux voies à suivre : ou bien isoler chimiquement les substances vénéneuses élaborées par le microbe, ou bien se borner à étudier d'une manière systématique l'action physiologique et toxique des cultures stérilisées. On sait les résultats importants auxquels M. Brieger a été conduit par la première méthode, qui lui a permis d'isoler, par exemple, la typhotoxine et la tétanine, poisons chimiques qui reproduisent sur l'animal une grande partie des symptômes observés dans le typhus et le tétanos. M. Brieger, cependant, n'a pas réussi, par son procédé, à extraire de ptomaïnes des cultures du *Streptococcus pyogenes*. MM. Manfredi

et Traversa ont donc eu recours à la seconde méthode dans leurs recherches sur le *Streptococcus* de l'érysipèle, dont l'identité avec le *Streptococcus pyogenes* est admise par un grand nombre d'auteurs. Pour stériliser les cultures, ils se servirent tantôt du filtre Chamberland, tantôt de la chaleur. Les cultures furent faites, en général, dans du bouillon de bœuf neutralisé et peptonisé; ils en varièrent cependant la concentration, et étudièrent également l'influence de la température et de l'oxygène. En injectant à des grenouilles, des lapins et des cobayes des doses variées de ces cultures, MM. Manfredi et Traversa constatèrent deux formes bien caractérisées de leur action toxique, une forme paralytique et une forme convulsive. Il est à noter que la même culture, injectée à doses égales à différents animaux, peut produire tantôt l'une, tantôt l'autre. La forme paralytique s'observe le mieux chez les grenouilles auxquelles on a injecté de 1-3^{ccm}. On voit alors se produire un état de stupeur et de coma qui persiste de 30 minutes à 5 heures, et auquel succèdent des phénomènes de paralysie qui progressent rapidement; d'ordinaire, la perte des mouvements volontaires et reflexes est complète en 5-15 minutes. La respiration s'arrête, et les grenouilles sont en état de mort apparente, mais apparente seulement, car le cœur continue à battre. Cette paralysie est d'origine centrale, car si, au début de ces phénomènes, on excite les nerfs périphériques ou les muscles au moyen d'un courant électrique, ils se contractent. Cependant plus tard, 15-40 minutes après le début de la paralysie, l'excitabilité de ces nerfs se perd aussi, de même que l'irritabilité du muscle. La forme paralytique se retrouve aussi chez les lapins, et moins fréquemment chez les cobayes, plus sujets à la forme convulsive, mais elle s'arrête alors généralement à la première période, et les animaux se remettent au bout de quelques heures. Cependant, deux lapins et un cobaye, qui semblaient avoir surmonté la crise, furent trouvés morts de 12-36 heures après l'injection. Pour ces animaux, la dose est de 10-25^{ccm}.

La forme convulsive s'observe sur les grenouilles et les cobayes. Elle débute généralement par un état de torpeur suivi au bout de 5-15 minutes de mouvements spasmodiques qui, localisés d'abord dans les muscles de la tête et de la partie supérieure du tronc, se généralisent progressivement en augmentant d'intensité. D'autres fois, les symptômes d'irritation motrice débutent brusquement, 5 à 12 minutes après l'injection, sous forme de convulsions épileptiformes ou de spasme tétanique. Au bout de 1 à 2 heures, les convulsions cessent, et il reste une paralysie générale pendant laquelle les grenouilles semblent mortes. A cette mort apparente

succède une mort réelle ou le retour à l'état normal. Dans la forme convulsive, également, les auteurs purent constater que l'irritation procède des centres nerveux centraux; en effet, quand on sectionne le tronc d'un des nerfs sciatiques avant l'injection, le membre postérieur correspondant est exempt de contractions convulsives.

Ces phénomènes toxiques s'observent avec des cultures d'âges différents, à partir de celles de 2 jours jusqu'à celles de 35 à 40 jours. Cependant, il arrive quelquefois que de 2 cultures du même âge et faites dans des conditions identiques, l'une reste presque sans effet sur les animaux, tandis que l'autre est toxique. Cette inconstance des effets doit-être attribuée, pensent MM. Manfredi et Traversa, soit à la résistance individuelle des animaux d'expérience, soit à des conditions particulières des cultures échappant pour le moment à notre appréciation. La concentration du bouillon, la plus ou moins grande proportion de peptone, sont sans effet appréciable. Dans les milieux nutritifs solides pourtant, où le *Streptococcus* croît maigrement, il se forme une moindre quantité de produits vénéneux. La température et l'oxygène ont plus d'influence. Cultivées à 37°, les cultures se montrèrent pour la plupart inactives; la température la plus favorable pour la production des ptomaines est celle de 28-30°, température à laquelle, d'après les recherches de De Simone, ce microorganisme croît le plus abondamment. Une température de 100° paraît fatale à ces produits, car les cultures stérilisées dans la vapeur d'eau furent presque toutes inactives. En faisant les cultures dans le vide on en obtient d'actives et d'inactives, mais celles qui sont toxiques dépassent en intensité les cultures faites en présence de l'oxygène. A l'abri de ce dernier, les substances toxiques sembleraient s'accumuler dans les bouillons, ce qu'elles ne font pas lorsqu'elles sont soumises à des phénomènes d'oxydation, puisque, dans ce cas, l'âge des cultures ne leur donne pas une toxicité plus grande. Cette action de l'oxygène est rendue manifeste encore par le fait que les cultures stérilisées, tant celles obtenues dans le vide que celles faites en présence de l'oxygène, et dont le pouvoir toxique a été préalablement vérifié, perdent toute activité quand on les abandonne à l'air pendant 2 à 4 jours.

Dans un chapitre spécial de leur mémoire, MM. Manfredi et Traversa montrent comment l'action toxique des produits secrétés par le *Streptococcus* de l'érysipèle peut servir à expliquer différents phénomènes encore obscurs ou mal faire comprendre qui s'observent dans le cours de l'érysipèle. Ainsi s'expliqueraient les phénomènes généraux décrits par les auteurs qui se sont occupés

de cette maladie, tels que la fièvre, les désordres nerveux sensoriels (céphalie, somnolence, insomnie, coma), les désordres d'excitation motrice (contractures, contractions cloniques et toniques, délire furieux et autres symptômes se rattachant à une grave affection du système nerveux central).

Il pourrait sembler curieux de voir les mêmes cultures provoquer, tantôt des symptômes paralytiques, tantôt des phénomènes convulsifs, mais les auteurs rapprochent de leurs résultats ce que l'on observe avec le virus rabique qui donne aussi, tantôt une rage furieuse, tantôt une rage paralytique.

MM. Manfredi et Traversa signalent enfin encore deux faits intéressants :

Le premier a trait aux récidives de l'érysipèle. De même qu'une première atteinte de cette maladie ne confère pas l'immunité, de même on peut reproduire plusieurs fois de suite chez le même animal des phénomènes d'intoxication au moyen des cultures privées de germes.

Le second fait montre qu'il peut y avoir réceptivité pour les produits toxiques d'un microbe, quand il n'y en a pas pour le microbe lui-même. Ainsi, les cobayes sont insensibles aux inoculations du *Streptococcus* de l'érysipèle, tandis qu'ils ressentent très bien les effets toxiques des cultures stérilisées.

E. F.

Dr HAMMERSHLAG. — **Recherches bactériologico-chimiques sur les bacilles de la tuberculose** (Extrait du *Compte-rendu des travaux présentés à la soixante-onzième session de la Société helvétique des Sciences naturelles* (août 1888), p. 75).

M. le Dr Hammershlag s'est livré chez M. le professeur Nenski, à Berne, à la culture des bacilles de la tuberculose dans le milieu indiqué par MM. Nocard et Roux (peptone et glycérine). D'après M. Hammershlag, on peut remplacer la glycérine par de la mannite et du sucre de raisin, et les sels de soude par des sels de potasse, sans nuire au développement des bacilles. Par contre, l'essai de remplacer la peptone par de la tyrosine n'a donné que des résultats négatifs. Un autre très bon milieu de culture est formé par une décoction d'orge additionnée de glycérine à 5 %.

L'analyse chimique des bacilles a donné :

Eau................	88.82 %
Substances solides..	11.18 %

De ces substances solides, 22.7 % étaient solubles dans l'alcool et l'éther. Après l'extraction par l'alcool et l'éther, le résidu contient :

Cendres.	8 %
C.	51.02 %
H.	8.07 %
N.	9.09 %

Ce qui frappe, c'est cette grande quantité de matières solubles dans l'alcool et l'éther, par laquelle les bacilles de la tuberculose paraissent se distinguer des autres espèces de bactéries étudiées jusqu'ici. Des recherches expérimentales sur des animaux ont montré que dans cet extrait, par l'alcool et l'éther, est contenue une substance toxique agissant d'une manière tétanique. Comme l'auteur n'a cependant pas encore pu obtenir cette dernière substance à l'état pur, il ne fait part de cette observation qu'avec réserve.

E. F.

Dr Emerich Ullmann. — **Des endroits où se trouvent les staphylocoques** (*Zeitschrift für Hygiene*, IV, 1, 1888, p. 55).

Le rôle important joué par les staphylocoques *(Staphylococcus aureus* et *albus)* dans la suppuration donne un grand intérêt à la question de savoir où se cachent ces ennemis invisibles. C'est à résoudre cette question que s'applique le Dr Ullmann. Ses recherches ont porté principalement sur l'air, l'eau, la glace et la terre. Pour décéler leur présence dans l'air, le Dr Ullmann se servait de plaques de gélatine ou de gélose qu'il exposait à l'air pendant un certain temps (une heure). Les staphylocoques liquéfiant rapidement la gélatine, et leurs colonies présentant un aspect caractéristique, il devenait facile de les retrouver. Pour arriver à une certitude entière, le Dr Ullmann inoculait cependant toutes les colonies ayant l'apparence des staphylocoques sur des tubes de gélatine et de gélose et s'assurait, par l'examen ultérieur des cultures et par des expériences sur des animaux, qu'il avait bien affaire à cet organisme; les résultats ainsi obtenus sont fort instructifs. A l'air libre, il trouva de 4 à 7 fois moins de staphylocoques que dans des espaces fermés; leur nombre diminue aussi avec l'altitude; au second étage, il y en avait moins qu'au rez-de-chaussée. Il constata également que le nombre des staphylocoques est soumis à des variations horaires dans le genre de celles découvertes par le Dr Miquel pour les bactéries atmosphériques en général. Quant au rapport entre le chiffre des staphylocoques et celui des autres mi-

crobes de l'air, il était dans une chambre habitée de l'Institut hygiénique de 2 jusqu'à 5 sur des plaques ayant donné naissance à un nombre de colonies variant de 40 à 70, soit environ de 1 pour 16. Dans les salles de malades et dans la salle d'opérations, cette proportion augmente notablement; dans cette dernière, elle était de 1 pour 8. Il est à noter que leur nombre augmentait après les pansements. Ils étaient, par contre, très rares dans un souterrain qui contenait de nombreuses matières en décomposition, et dont l'air renfermait un grand nombre de microorganismes. Les parois des chambres d'habitation en contenaient fort peu, tandis que celles de la salle d'opérations en accusaient parfois plusieurs centaines par centimètre carré.

Dans les *eaux* de source qu'il analysa, au moyen de cultures sur plaques, l'auteur ne les trouva pas; il les rencontra, pourtant, en nombre variable dans des eaux contaminées (eaux de rivière) ainsi que dans l'eau de pluie.

Les analyses de *glace* sembleraient démontrer que les staphylocoques sont assez sensibles à l'action du froid, car plusieurs plaques n'en renfermaient point, bien que l'eau dont provenait cette glace en contînt un nombre considérable. D'autres plaques, il est vrai, furent trouvées fort riches en staphylocoques. Ceci indiquerait que cette espèce de microbes est douée de degrés fort variables de résistance.

Dans la *terre*, le Dr Ullmann n'a trouvé les staphylocoques que rarement et seulement dans les couches supérieures. Ajoutons qu'il les a également trouvés en nombre variable dans la salive et sur les muqueuses de l'homme sain et des animaux. Il a aussi constaté leur présence dans l'œsophage, dans les intestins et dans la vessie d'animaux fraîchement tués dans ce but.

E. F.

Dr GEORGE FRANK. — **Note sur le Choléra nostras.** (*Zeitschrift für Hygiene*, t. IV, 2, p. 206).

L'auteur a fait dans 7 cas de *choléra nostras* des recherches au sujet du bacille que MM. Finkler et Prior considèrent comme l'agent infectieux de cette maladie. Dans aucun de ces 7 cas, ce bacille ne fut retrouvé ; l'intestin ne contenait d'ailleurs, à part les espèces bactériennes qu'il héberge habituellement, aucun microbe dont la présence constante put faire admettre l'action pathogène.

E. F.

Dr Richard Mittmann. — **Des Microbes qui se trouvent sous les ongles.** (*Virchow's Archiv für path. Anatomie u. Physiologie*, t. CXIII, 1, p. 203).

En ensemençant les poussières contenues sous les ongles de 25 personnes, dans différents terrains de culture, M. le Dr Mittmann a réussi à isoler 78 espèces différentes de bactéries (35 microcoques, 21 diplocoques, 18 bacilles, 3 sarcines et une levûre). En fait d'espèces connues, nous trouvons dans la longue liste de l'auteur : le *Bacillus fluorescens liquefaciens*, le *Diplococcus roseus* et le *Bacillus pyocyaneus*. Il nous semble d'ailleurs que l'auteur se contente, pour admettre l'existence d'une espèce distincte, de différences macroscopiques des cultures bien légères, et il est probable qu'en confrontant ses cultures avec plus de sévérité, le nombre des espèces différentes en eût été notablement réduit.

E. F.

Dr W. I. Councilman. — **Nouvelles recherches sur l'organisme de la Malaria de Laveran.** (*Fortschritte der Medicin*, VI, nos 12 et 13, 1888).

Le Dr Councilman résume dans ce travail les recherches qu'il a faites sur l'organisme de la malaria, dans les nombreux cas de paludisme qu'il a pu étudier à l'hôpital de Baltimore. Le résultat auquel il arrive est la confirmation des travaux de Laveran, Richard, Marchiafava et Celli. Comme eux, il a trouvé dans le sang des malades le parasite de Laveran, et en décrit même dix formes distinctes, tandis que Laveran ne l'avait encore vu que sous quatre aspects différents (corps sphériques, filaments mobiles, corps en croissant, corps hyalins pigmentés). Il accompagne la description des formes qu'il a vues (corps 1-10) de deux planches de dessins fort bien exécutés, mais qu'il faudrait reproduire pour pouvoir le suivre dans les détails circonstanciés qu'il donne sur chaque corps. L'auteur estime qu'il est impossible de prendre les formes de ce parasite pour de simples altérations des globules sanguins, et il conclut qu'il constitue, en raison de sa présence constante dans le sang des personnes atteintes de paludisme et non encore traitées par la quinine, tandis qu'on ne le retrouve pas dans d'autres maladies, un moyen de diagnostic aussi certain que la recherche du bacille de Koch pour la tuberculose.

Dans 150 cas examinés par le Dr Councilman, et qui n'avaient pas encore été traités par la quinine, il fut retrouvé chaque fois.

Dans les cas, toutefois, où le malade a déjà pris de la quinine, il est à noter que le parasite peut être absent, attendu que ce médicament le fait disparaître du sang. Les corps en croissant sont la forme la plus résistante du parasite, et ne cèdent qu'à un emploi prolongé de la quinine. Souvent même, ce moyen est impuissant pour les faire disparaître. Toutes les tentatives de cultures que fit l'auteur donnèrent des résultats négatifs.

E. F.

NEISSER. — **Préparations microscopiques colorées de bactéries.** (*Zeitschrift für Hygiene,* IV, 2, p. 165).

Dans un récent travail sur la formation des spores, sur lequel nous aurons peut-être à revenir dans la suite, M. le professeur Neisser, de Breslau, indique une méthode simplifiée pour les préparations microscopiques colorées de microbes, qui nous paraît une innovation fort heureuse. D'habitude, on étend le liquide ou la matière à examiner sur une lamelle, on sèche, en passant celle-ci 3 fois dans la flamme d'un bec de Bunsen, on la met dans la solution colorante, et enfin sur le porte-objet ; on n'a plus qu'à ajouter la goutte d'huile et à examiner à l'immersion homogène. M. Neisser supprime la lamelle ; il étend le liquide sur le porte-objet même, fait sécher en passant dans la flamme, ajoute la solution colorante, et, quand la préparation est sèche, l'examine à l'immersion homogène en mettant l'huile sur la préparation même. On se trouvera bien de l'emploi de ce procédé, surtout quand il s'agit d'examiner rapidement des séries de préparations que l'on ne compte pas conserver. On s'épargne ainsi la peine de laver et de sécher les couvre-objets, toujours si fragiles. Rien, du reste, n'empêche de conserver ces préparations. Pour cela, on n'a qu'à enlever l'huile et à monter dans le baume. On peut même les garder sans les monter dans le baume ; il suffit, l'huile étant enlevée avec de l'éther, de les tenir à l'abri de la poussière.

E. F.

L'Éditeur-Gérant :

GEORGES CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

NOTE SUR DEUX NOUVEAUX INFUSOIRES CILIÉS
DE LA BAIE DE CONCARNEAU

PAR

FABRE-DOMERGUE

Les deux organismes que j'ai l'intention de décrire aujourd'hui présentent cette commune particularité que, par leurs caractères morphologiques, ils diffèrent de la plupart des types connus. Bien que l'étude systématique des ciliés prenne de jour en jour une plus grande extension, et qu'il soit très difficile de se tenir exactement au courant des plus récentes publications, je me décide à donner la description de ces deux espèces, espérant apporter ainsi un degré de plus aux matériaux futurs d'une classification des organismes unicellulaires.

SPATHIDIOPSIS N. G. ET N. SP. SOCIALIS.

J'ai trouvé cette jolie petite forme dans les algues de la rivière du Morot, au fond de l'anse que forme ce ruisseau par l'élargissement de son lit et sa jonction avec le port de Concarneau. Extrêmement étroit jusqu'à ce point, le ruisseau du Morot se jette alors dans une large échancrure, longue de près d'un kilomètre, communiquant avec la mer et soumise à l'influence des marées. Malgré l'apport

constant d'eau douce effectué par le ruisseau, on peut considérer l'eau de cette baie comme de l'eau de mer à peine diluée d'eau douce.

Le *Spathidiopsis* présente des mœurs tout à fait particulières. Il vit par petites colonies de huit à dix individus dans des sortes de nids creusés dans les détritus qui flottent à la surface de l'eau. De temps à autre un individu en sort, fait une petite excursion dans le voisinage et revient au domicile commun. Tel est, du moins, le spectacle que j'ai souvent observé directement en portant avec une pipette quelques détritus sur le porte-objet. Ceux qui séjournent dans le nid sont presque immobiles, doués seulement d'une sorte de mouvement lent de rotation les uns sur les autres comme des infusoires dans un kyste. Je ne crois pourtant avoir affaire ici ni à un kyste de division, ni à un kyste d'habitation, mais simplement à une cavité creusée par les individus dans une agglomération plus ou moins lâchement spongieuse de ces détritus jaunâtres si communs dans toutes les eaux. Autant les individus sont tranquilles quand ils se trouvent ainsi en petites colonies, autant ceux que l'on trouve errants librement dans le liquide sont vifs et difficiles à étudier.

Le corps est assez flexible mais non contractile. Sa forme générale varie considérablement, selon l'état de vacuité ou de replétion de l'individu. Parfois ovoïde et régulièrement cylindrique, il présente souvent la forme d'une poire à ventre très renflé lorsque l'animal vient d'avaler un gros Infusoire (*fig.* 7).

La bouche offre à étudier une structure toute particulière. Elle a la forme d'une longue fente qui, partant du pôle antérieur du corps, descend suivant un de ses méridiens jusqu'au quart antérieur environ. Cette fente, à peine visible en temps normal, est bordée, de chaque côté, d'un épaississement cuticulaire qui apparaît comme une ligne claire et est terminée à sa partie inférieure par une sorte de petite fossette résultant de l'écartement des lèvres à cet endroit. Les figures 2, 5, 6 montrent nettement cette disposition. Quand l'individu va avaler une proie on se rend alors mieux compte de la capacité d'absorption de cette bouche en apparence si étroite. Le pôle antérieur du corps

se fend littéralement en deux par l'écartement des deux lèvres et la proie, parfois aussi grosse que le chasseur lui-même, est engloutie en un clin d'œil. La bouche reste un moment béante (*fig.* 7), comme distendue par l'effort et reprend sa forme primitive, mais l'opération entière dure à peine 30 ou 40 secondes.

La longueur du corps varie entre 0,065 et 0,040; sa largeur est chez les individus à jeun moitié moindre environ; chez les individus bourrés, à peu près égale à sa longueur.

La couleur du corps varie selon son contenu. Les individus vides sont parfaitement incolores et transparents; les individus bourrés présentent souvent une grande opacité et une teinte brune ou jaunâtre très accentuée.

La disposition des stries d'implantation des cils est, ainsi que l'a fait remarquer Bütschli d'une manière générale dans ses *Protozoa,* subordonnée à la forme même de la bouche. Chez le *Spathidiopsis,* leur direction est toujours plus ou moins spiralée, mais leur mode de terminaison aux deux pôles est un peu différent. Au pôle postérieur *(fig. 4),* elles viennent toutes aboutir à une ligne claire allongée située dans le même plan que la fente buccale. Au pôle antérieur, au contraire, elles s'arrêtent brusquement le long des bords de cette fente, de sorte que l'on peut se figurer la fente buccale primitivement terminale, analogue comme position à la ligne claire du pôle postérieur, puis légèrement déplacée latéralement et entraînant avec elle le système ciliaire.

La constitution des lignes d'insertion ciliaire est très élégante et contribue à donner à l'organisme son cachet particulier. Chacune de ces lignes se compose, en effet, d'une bande sombre formée d'un grand nombre de points plus ou moins régulièrement rangés en lignes transversales et bordée latéralement de points plus gros. Ce sont ces gros points latéraux qui, autant que j'ai pu en juger, représentent la base d'insertion des cils. Ceux-ci sont courts et fins.

La vésicule contractile placée postérieurement présente des contractions très lentes dont je n'ai pu déterminer le nombre.

Le noyau a la forme d'un boudin allongé, constitué par

une masse homogène dans laquelle sont plongées des granulations très nettes, séparées les unes des autres. Je n'ai pu m'assurer de la présence d'un nucléole.

La disposition spiralée des cils de cet organisme, sa petite taille pourraient à première vue le faire confondre avec le *Placus striatus* Cohn. Comme lui, en effet, il paraît, sous un faible grossissement, parcouru par deux séries de stries se coupant dans un angle de 35°, aspect résultant de la superposition optique des stries des deux parois opposées du corps, mais j'ai eu l'occasion d'étudier en même temps le *Placus* et de m'assurer des caractères qui distinguent nettement ces deux formes.

Opalina cerebriformis n. sp.

Pendant tout l'été de 1888 les pêches pélagiques effectuées dans la baie de Concarneau présentaient de nombreuses dépouilles vides de cirrhipèdes, des téguments transparents résultant sans doute des mues auxquelles sont soumis ces animaux. Or, en examinant ces dépouilles, l'on trouvait à coup sûr, et là seulement, une forme bizarre d'Infusoire cilié, que je vais essayer de décrire ici.

Corps transparent incolore, flexible non contractile, présentant une face légèrement concave et une autre face convexe. Cette dernière présente vers son tiers inférieur un sillon profond, qui donne à l'organisme l'aspect d'un petit cerveau suivi d'un cervelet. Cette comparaison se trouve encore justifiée par la présence d'un certain nombre de stries d'implantation ciliaires, très espacées, qui donnent à toute la masse un aspect tourmenté.

Absolument transparent dans la plus grande partie de sa masse, le corps présente à son centre et vers sa face aplatie une zone granuleuse, dans laquelle sont logées un certain nombre de granulations claires et deux vésicules. La vésicule postérieure n'est autre chose qu'une vésicule contractile présentant environ une contraction par minute à 20°. La vésicule antérieure non contractile présente un aspect rayonné qui ne rappelle rien de ce que l'on connaît jusqu'ici chez les Protozoaires. Cet aspect est-il dû à des



cloisons incomplètes ou à des pointes radiairement implantées contre ces parois; c'est ce que je n'ai pu décider.

Vue par la face aplatie, la zone granuleuse paraît nettement limitée en arrière par une ligne courbe, dont la convexité est tournée en avant. A sa partie antérieure, au contraire, elle est mal délimitée et se confond avec le plasma incolore du reste du corps.

La longueur des individus varie entre 0,045 et 0,030.

Je n'ai pu découvrir ni bouche ni anus chez les individus que j'ai étudiés, et c'est à ce titre que je les range provisoirement avec les Opalines.

Les cils sont implantés suivant des lignes creuses, obliquement disposées, et dont les figures 12-16 feront mieux comprendre la direction qu'une longue description. Ils sont courts, fins et difficilement visibles sur le suivant.

Fixés à l'acide osmique, les *Opalina cerebriformis* laissent voir un noyau mamelonné, finement granuleux, sans nucléole.

EXPLICATION DES FIGURES

Planche II

Grossissement : *Fig. 1-8* $\frac{500}{1}$ *Fig. 9* $\frac{1000}{1}$ *Fig. 10* $\frac{500}{1}$ *Fig. 11-15* $\frac{1000}{1}$

Fig. 1-10. — Spathidiopsis socialis

1 Vu par la face dorsale.
2 Vu par la face ventrale.
3 Face latérale gauche.
4 Pôle postérieur.
5 Pôle antérieur.
6 Bouche vue de trois-quarts.
7 Individu venant d'absorber une proie.
8 Individu bourré de nourriture.
9 Stries du corps très grossies.
10 Noyau.

Fig. 11-15. — Opalina cerebriformis

11 Face plane ou ventrale.
12 Face latérale gauche.
13 Face dorsale.
14 Face latérale droite.
15 Noyau.

SUR UNE

NOUVELLE ESPÈCE DE MICROBE CHROMOGÈNE

LE *BACTERIUM ROSACEUM METALLOIDES*

PAR

G. F. DOWDESWELL, M. A.

Membre de la Société Linnéenne et de la Société Royale micrographique de Londres

L'intérêt avec lequel les productions chimiques des schizophytes ont toujours été considérées, s'est accru dernièrement d'une façon notable à la suite des brillants résultats obtenus par M. Roux et ses collaborateurs. Ces recherches ont démontré que, grâce à ces substances, l'on pourrait se défendre contre de dangereuses maladies infectieuses ; elles ont permis d'espérer que, par un traitement plutôt prophylactique que thérapeutique, l'on aurait le pouvoir d'enrayer la marche de maints fléaux et que les longs travaux de M. Pasteur, sur « la théorie des germes » aboutiraient à un résultat inappréciable pour le bien de l'humanité.

Les pigments remarquables que forment ces organismes avaient attiré l'attention dès l'époque d'Ehrenberg, le père de la microbiologie systématique, qui décrivit les caractères du *Monas (Micrococcus) prodigiosus* dont l'apparition en apparence spontanée de la matière colorante sur le pain, le lait et d'autres substances, avait été considérée antérieurement comme miraculeuse. Cet organisme fut étudié, confondu toutefois avec d'autres bactéries chromogènes, par le Dr Schrœter (1) et plus tard par le Dr Wernich (2), auteurs dont les travaux forment la base de nos

(1) Cohn. *Beitr. z. Biol. d. Pflanzen,* Bd. I, Heft II, S. 109-127.

(2) *Op. cit.,* Bd. III, Heft. I, S. 105.

connaissances actuelles sur les schizophytes chromogènes.

Le Dr Crookshank, professeur de bactériologie au King's collège de Londres, me donna dernièrement un microbe qui formait un remarquable pigment en tout semblable au rouge Magenta (Rosaniline du commerce). Ce pigment offrait la coloration rouge foncée et le reflet métallique de la rosaniline, et comme l'on sait que beaucoup de pigments bactériens présentent d'étroites parentés chimiques avec les couleurs d'aniline, il n'était point impossible que celui-ci fut identique à la rosaniline. Ce sont les résultats de cette étude que je vais exposer ici.

Morphologie

Forme et dimension. Habitat, développement dans les divers milieux de culture.

Le microbe Magenta appartient au genre bactérium dans la taxinomie de Cohn ainsi que dans celle de Zopf, plus récente, et généralement adoptée aujourd'hui. Il présente pourtant certaines diversités de forme, certaines variations physiologiques sous l'influence des milieux de culture et, plus qu'aucune autre espèce connue de très grands écarts de dimensions. C'est sur les milieux solides qu'il montre le mieux sa remarquable coloration, et il s'y développe beaucoup mieux que dans les milieux liquides ; son habitat naturel doit donc être un milieu solide. Dans ces cultures, et en pleine activité vitale, il a la forme d'une bactérie de grandeur moyenne dont les bâtonnets varient entre 0,6-0,8 μ de large, selon le milieu, et sont à peu près deux fois aussi longs que larges. Ses proportions varient du simple au triple et même plus encore. Il est alors, d'après mes observations, invariablement immobile, se développant rapidement par divisions transversales répétées, ne formant, à proprement parler, ni chaînes ni zooglées d'aucune sorte. Bien qu'à l'œil nu les colonies aient l'aspect gélatineux, l'examen microscopique n'y révèle aucune substance interstitielle. Après le premier jour, une partie des cellules de la colonie — à l'exception peut-être de

celles qui se trouvent sur ses bords extrêmes — semble passer à l'état de repos, formant des masses densément agrégées de cellules moins longues généralement que celles qui sont en activité, d'une dimension plus uniforme, et dont un certain nombre se colorent difficilement par les couleurs habituellement employées en technique. Il n'y a guère de doute que ce ne soit là une phase de repos, ainsi que le démontrera la suite des observations sur les propriétés et la vitalité de cet état. Toutes les cultures que j'ai faites jusqu'ici sur milieu solide présentaient cette phase de développement.

Inoculée par strie sur la surface inclinée d'un tube de gélatine nutritive, préparée selon la formule ordinaire — bouillon peptone et chlorure de sodium avec gélatine, à 10 p. $^0/_0$ — cette bactérie se développe rapidement à la température de 15° c., et montre, après 20 heures, sa couleur caractéristique. Après quelques jours, l'on voit apparaître l'éclat métallique qui le distingue, mais ce remarquable caractère est quelque peu incertain et peut paraître beaucoup plus tard, parfois même, dans certains cas, manquer complètement. Le développement continue à 15° et la colonie acquiert une épaisseur appréciable sur la surface de la gélatine en même temps qu'elle s'étend sur une largeur de 3 à 4 mm., mais pas beaucoup plus. Après un mois ou six semaines elle cesse de s'étendre, liquéfie peu à peu la gélatine sur la ligne où elle s'est développée et la colonie tombe au fond du tube laissant la portion supérieure de la gélatine claire, incolore, traversée par une étroite ligne jaune qui représente l'ancienne strie d'inoculation.

Sur la gelée d'agar-agar, à 1 p. $^0/_0$ d'une composition nutritive semblable à celle de la gélatine, la bactérie se développe à 15° c. moins rapidement que sur celle-ci, sa couleur est plus pâle, moins claire, elle ne présente point de lustre métallique et, comme sur la gélatine, s'étend très peu après les premiers jours.

Sur la même gelée, additionnée de 5 p. $^0/_0$ de glycérine, la colonie est encore plus pâle, présentant une teinte rosée seulement sur ses bords, tandis que la partie centrale de la strie demeure presque blanche.

Inoculée avec une aiguille dans la masse de la gélatine nutritive — culture par piqûre — elle se développe d'abord et montre sa couleur foncée presqu'entièrement à la surface par suite de l'oxydation. Après quelque temps, elle se fraie une route dans l'intérieur de la gélatine formant un large entonnoir conique, rempli d'un liquide trouble, à peu près semblable à celui que forme, dans les mêmes conditions, le spirille cholérique de Finkler et Prior, liquide qui renferme vers le fond de l'entonnoir un dépôt coloré constitué par des bactéries, dépôt moins foncé que celui de la surface.

Mais c'est sur les tranches de pomme de terre bouillie, après inoculation sur la surface, à la température de 15°, que cette bactérie se développe avec plus de vigueur et donne les colonies les plus richement colorées. Celles-ci apparaissent 18 heures après l'inoculation et s'étendent en couche dense, formant une pellicule extrêmement épaisse, colorée dès l'abord, d'une teinte riche et uniforme, et montrant l'éclat métallique principalement sur ses bords, c'est-à-dire au point où se trouvent les cellules les plus jeunes. Après avoir couvert la surface de la pomme de terre, la colonie s'épanche sur ses bords. Dès le premier jour, on voit des masses de bactéries passer à l'état de repos formant sur la colonie des points moins densément colorés. Ces bactéries, au repos, présentent parfois les mêmes formes et les mêmes dimensions que dans le reste de la culture. Autour des bords de celle-ci, les cellules en végétation présentent les formes de bactérie telles que nous les avons décrites plus haut, mais elles sont toujours immobiles. Si l'on enlève la pellicule formée par une colonie sur une tranche de pomme de terre, la surface de celle-ci semble avoir perdu sa propriété nutritive et être demeurée impropre à recevoir une nouvelle colonie.

Il est à remarquer que, bien que ce microbe se développe plus abondamment sur la surface des pommes de terre cuites que sur n'importe quel autre milieu, il ne croît, au contraire, pas du tout sur la pomme de terre crue et si celle-ci est tout entière légèrement grillée — — ce qui est le meilleur moyen de stérilisation — puis inoculée par le passage d'une aiguille sur sa surface, la

portion centrale demeure parfaitement stérile, tandis que sur les bords, où elle est cuite, il se développe de petites colonies fortement colorées. Wernich *(loc. cit)* a observé le même fait à propos du *Micrococcus prodigiosus* et en discute la cause sans arriver à aucune conclusion. Il me semble qu'on pourrait l'expliquer par ce fait que la surface des pommes de terre crues, même tenue dans une atmosphère humide, paraît plus sèche et conséquemment moins propre au développement des colonies que la surface des pommes de terre cuites.

Sur les tranches de pain humide la bactérie se développe moins vigoureusement que sur les pommes de terre cuites et sa couleur est moins riche.

Sur le blanc d'œuf coagulé elle se développe parfaitement, mais les colonies demeurent pâles et ne présentent point d'éclat métallique.

Elle se développe bien dans plusieurs milieux liquides, soit neutres ou alcalins, soit acides. Dans ces cultures, ses caractères présentent quelques différences remarquables d'avec ceux qu'elle revêt sur les cultures solides. En premier lieu, il est exceptionnellement rare qu'il s'y développe la moindre trace de matière colorante et, quand il s'en produit, elle est très pâle et ordinairement limitée à quelques points de la masse liquide. Mais ce qu'il y a de plus remarquable dans ces cultures liquides, c'est que la bactérie est toujours active dans ses premiers stades de développement. Ses cellules sont, d'une manière générale, plus grandes et proportionnellement plus allongées que dans les cultures sur milieu solide. Elles ont une plus grande tendance à former des chaînes toruliformes; mais, après un jour ou deux, elles passent à l'état de repos, et leurs caractères se rapprochent beaucoup de celles qui se développent sur les milieux solides. Jamais l'on n'observe sur la surface du liquide de zooglée ou de pellicule.

Dans le bouillon neutre concentré, fait d'après la formule de Koch — 9-10 p. $^0/_0$ ou plus diluée d'après celle du Dr Miquel 3-4 p. $^0/_0$ — avec peptone et chlorure de sodium, elle se développe vigoureusement, mais sans présenter aucune coloration; les cellules sont plus petites que dans

quelques autres milieux liquides et n'ont pas de tendance à se mettre en chaînes.

L'infusion de pois neutre à 4 p. $^0/_0$ paraît lui convenir mieux que tout autre liquide; les cellules atteignent une dimension beaucoup plus grande, quelques-unes présentant en plein développement 1-2 μ de large et une longueur proportionnelle. Elles sont alors plus grandes que celles du *B. termo* ou même que celles du Bacille du foin, mieux nommé par Klein *B. Septicus*. A la partie inférieure de la culture l'on voit en général une légère coloration plus visible encore près de la surface au contact de l'air. Quelquefois, comme dans d'autres infusions, elle forme de petites masses floconneuses qui présentent une coloration distincte, mais faible; mais ce caractère n'est pas constant, et ces masses semblent être non des zooglées de microbes, mais un coagulum formé par les matières albuminoïdes dont les infusions de légumineuses sont particulièrement riches.

Dans l'urine diluée à 4 p. 100, puis neutralisée, la bactérie se développe, mais les cellules végétatives sont plus petites et ont une tendance plus marquée que dans les liquides précédents à former de courtes chaînes. L'on voit apparaître çà et là de petites masses faiblement colorées de coagulum, qui ont une tendance à se réunir à la surface du liquide contre les bords du tube. L'on observe aussi dans ce milieu une légère fermentation qui ne se voit point dans le bouillon, ni dans l'infusion de pois; mais elle ne persiste qu'un jour ou deux au plus.

Dans une solution neutre de sels minéraux (liquide normal de Cohn), elle se développe normalement sans aucune particularité remarquable.

Dans le bouillon neutre additionné de 2 p. 100 d'extrait de malt et de 5 p. 100 de sucre de canne, ses caractères sont très semblables à ceux que donnent les cultures dans le bouillon pur. Les cellules ne sont pas plus grandes, comparées à celles que donne un milieu riche, mais elles donnent lieu à une fermentation qui se continue pendant quelques jours.

Dans le bouillon additionné de 5 p. 100 de carbonate de potasse, le développement est retardé; il n'apparaît aucun

trouble avant 40 heures, et celui-ci est surtout visible à la partie supérieure du liquide, ce qui démontre probablement une affinité plus grande du microbe pour l'oxygène de l'air dans les solutions alcalines que dans les solutions neutres ou acides. Avec une proportion de 1 p. 100 du même sel, le développement et les caractères des cellules qui sont très petites demeurent semblables.

Dans le bouillon additionné de 0,25 p. 100 d'acide tartrique, le développement est incertain; le plus souvent, il est complètement arrêté; avec 0,1 p. 100, il est normal.

Toutes ces cultures ont été effectuées à la température de 15° c.

Dans les cultures sur plaques de gélatine à 15° c. les colonies se développent lentement et ne deviennent visibles qu'après quelques jours. Elles sont d'abord incolores; mais, en fin de compte, elles semblent toutes former un pigment, différant en cela jusqu'à un certain point des cultures sur plaques du *Micrococcus prodigiosus*, espèce mieux connue, chez laquelle, d'après mes propres observations, il y a toujours quelques colonies qui demeurent çà et là parfaitement incolores. Il y a cependant, parmi les colonies du *Bacterium ros. metalloïdes* et dans le cours de leur développement, des différences dans l'intensité de la coloration. Ces colonies forment de petites plaques saillantes sur la surface de la gélatine, ne dépassant jamais deux millimètres de diamètre et ne liquéfiant jamais la gélatine quand elles sont isolées. A un faible grossissement, et dans leur premier stade de développement, elles paraissent opaques au centre, entourées d'une zone marginale plus transparente et granuleuse, qui est constituée par les cellules les plus jeunes en plein développement. Plus tard, les colonies sont complètement opaques à la lumière transmise. Transportées sur une lamelle, desséchées, colorées et montées, ces colonies ne montrent aucun caractère distinctif, sinon que les lignes de développement semblent rayonner à partir de leur centre.

C'est dans les cultures cellulaires, sous le microscope — avec une platine chauffante, si besoin est — que l'on observe le mieux les caractères morphologiques d'un mi-

crobe. Dans ce but, je me sers des cellules que j'ai décrites antérieurement (1). Ce sont les plus commodes, et elles laissent facilement étudier dans les plus forts objectifs toutes les parties de la culture. Dans une semblable préparation avec une infusion de pois placée à 15° c, l'on voit que la multiplication du *Bacterium ros. metalloïdes* est déjà en bonne marche 18 heures après l'inoculation. Un grand nombre des organismes se présentent sous la forme de grandes bactéries douées de mouvement, surtout aux environs des bords de la culture où l'air pénètre le plus facilement. Déjà quelques-unes des cellules ont passé à l'état de repos, se réunissant en petites masses et s'attachant au couvre-objet. Les chaînes formées de peu de cellules, par suite de divisions réitérées, sont plus nombreuses ici que dans les portions de cultures extraites d'un tube contenant un milieu solide ou liquide. Cela tient sans doute à ce que l'union de ces cellules est très faible et que les manipulations qu'exige leur transport de la culture sur le porte-objet entraînent leur désagrégation. Cela explique pourquoi une préparation de culture desséchée sur une lamelle chauffée et colorée, selon la méthode ordinaire, montre rarement des formes composées de plus de 2 cellules, appelées aussi formes en haltères ou en 8 de chiffre. Les dimensions de ces cellules mobiles sont à peu près les mêmes que celles qui se trouvent dans les cultures d'infusion de pois, et, comme nous l'avons déjà dit, elles diminuent rapidement de nombre et de taille après le premier jour. L'on peut observer ici ce qui pouvait se voir sur les lames préparées avec de vieilles cultures solides, ou liquides, des cellules isolées, d'une longueur relativement énorme, 8 ou 10 fois plus grandes que les autres, mais de la même largeur. Elles semblent être toujours immobiles et se trouvent parmi les autres; mais elles sont peu nombreuses, clair semées çà et là dans le champ du microscope. On en trouve toujours cependant quelques-unes dans chaque préparation. Elles ont tout d'abord une segmentation très

---

(1) *Journal Royal microscopical Society*, London, 1885, p. 16.

peu accusée ; leur plasma est ordinairement nettement granuleux.

Dans les cultures en cellules, sous le microscope, la plus grande partie des microbes revêt, après quelques jours, une forme coccoïde ou de repos et sont répandus très également dans la préparation, mais ils n'y forment pas les masses agrégées que l'on voit sur les cultures solides et cela probablement, à cause de l'appauvrissement rapide du milieu nutritif. Les cellules longues persistent cependant pendant un temps considérable, mais elles finissent par montrer une tendance à se désagréger en leurs segments constituants. Je reviendrai plus tard sur la structure interne de ce microbe.

En résumé il semble que cet organisme présente quelques différences de forme et d'aspect en diverses circonstances. Immobile sur les cultures solides, actif dans les milieux liquides, il présente, dans ses dimensions, des variations plus grandes qu'aucun des autres microbes connus jusqu'ici, et démontre la vérité du Pléomorphisme des Schizophytes, théorie fondée par un homme à qui la microbiologie pathologique et systématique doit énormément, je veux parler de feu Davaine, dont la doctrine est maintenant confirmée et établie par les recherches si autorisées de Bary, de Zopf, etc.

Dans des conditions semblables à elles-mêmes, autant que j'ai pu l'observer, les caractères morphologiques du *Bacterium ros. metalloïdes* sont cependant parfaitement constants dans certaines limites de dimensions. Il n'est pas douteux que nous nous trouvons là en présence d'un phénomène que l'on trouve chez d'autres organismes, phénomène qui a conduit à la doctrine de la « transmutation des espèces » chez les champignons inférieurs. Cette doctrine a elle-même conduit à la négation de l'existence d'espèces distinctes dans ce groupe et à la fausse assertion de von Nägeli (*Die niederen Pilze,* etc.), qui prétend que, dans tout le groupe des Schizomycètes, « il n'y a aucune raison pour admettre l'existence de plus de deux ou trois bonnes espèces ». Cette opinion est justemont qualifiée d'insoutenable par de Bary (*op. cit. Vorlesüngen,* etc.), et l'on est en droit d'espérer que cette question peut être aujourd'hui

considérée comme vidée après la claire exposition qu'en a donnée cet auteur avec sa rigueur habituelle de raisonnement.

Caractères physiologiques.

Résistance à la température. Aérobiose et anaérobiose. Fonctions zymotiques ou septiques.

Influence de la température. — A ce point de vue, le *Bacterium ros. métalloïdes* est remarquable par son excessive intolérance à la moindre élévation de température. Il contraste ainsi fortement avec la plupart des autres espèces chromogènes et avec son prototype, le *Micrococcus prodigiosus*. La température qui lui est le plus favorable est celle de 15° c. environ. A une température de 10 ou 12 degrés, il se multiplie encore par division ; mais un peu au-dessous de ce point, son développement est retardé. Il en est de même à 25° c. A la température habituelle de l'étuve, 35° c., il est complètement arrêté dans les milieux liquides, tandis qu'à la même température, sur l'agar-agar, il se développe lentement et donne des colonies incolores ou presque incolores. Des cultures faites par inoculation de ces colonies sur les pommes de terre, ou la gélatine à 15° c., donnent la coloration caractéristique. La culture incolore provenant de l'étuve, transportée à une température plus basse, ne présente aucune coloration après un développement de quelques jours.

Point extrême de résistance à la chaleur. — Pour déterminer le degré de température fatal à la vie de ce microbe, j'ai suivi la méthode de M. Chauveau (1). Cette méthode consiste à remplir des tubes capillaires avec une culture vivante et neutre, et à plonger, pendant un certain temps, ces tubes dans de l'eau portée à la température voulue. Si l'on emploie des tubes ou des vases d'un plus grand diamètre, des tubes à essai, par exemple, le liquide qu'ils

(1) *Comptes rendus Acad. Sc.*, 1882, p. 169.

contiennent ne prend pas la température du milieu ambiant d'une manière uniforme, et les résultats ainsi obtenus sont souvent entachés d'erreur. Les tubes soumis à la température voulue servent à inoculer des cultures franchement stérilisées, et l'on note les résultats obtenus.

J'ai trouvé qu'une température de 55° c., agissant pendant 5 minutes, était ordinairement, mais non toujours fatale à la vie de ces organismes. A 60° c., ils sont sûrement détruits. Si l'on immerge un tube dans l'eau ayant la température de la chambre, que l'on élève lentement sa température jusqu'à 55° c. et que l'on enlève immédiatement le tube dès que ce degré est atteint, le microbe est infailliblement tué, et les cultures inoculées avec le contenu du tube ainsi traité demeurent stériles. La température extrême à laquelle peut résister le *Bactérium ros. métalloïdes*, dans un milieu de culture neutre, est donc environ un peu au-dessus de 55° c.

Aérobie et anaérobie. — L'avidité de cet organisme pour l'oxygène apparaît dans maintes circonstances, ainsi que je l'ai déjà mentionné, et sa pigmentation est en grande partie, mais non entièrement, le résultat de l'oxydation. Ainsi que j'ai pu le démontrer, il exerce un grand pouvoir réducteur sur les couleurs dissoutes dans les milieux de culture et dont la coloration dépend de l'oxydation (1). Le *Bacterium ros. métalloïdes*, en se développant dans une infusion de pois fortement colorée par le sulfo-indigotate de soude, rend, au bout d'un ou deux jours, le liquide complètement incolore, surtout d'abord à sa partie supérieure. Plus tard, la couleur reparaît à la partie supérieure du liquide, la portion inférieure demeurant incolore

---

(1) Dans ces observations sur le pouvoir réducteur des microbes, il est utile, si l'on emploie de la gelée nutritive colorée, d'instituer des expériences de contrôle pour éviter les erreurs. J'ai observé, en effet, que ces milieux colorés, abandonnés à eux-mêmes et non inoculés, perdent leur couleur spontanément et complètement au bout de quelque temps. Cela provient sans doute de ce que la gélatine est facilement oxydable, car jamais je n'ai observé ces décolorations spontanées sur les milieux liquides, mais je ne puis dire si elles ne se produiraient également aussi chez eux après un certain temps.

avec un aspect particulier et démontrant ainsi combien notre organisme est énergiquement aérobie (1).

Quelques organismes néanmoins, qui sont de préférence aérobies et le sont même fortement, se développent à l'abri du contact de l'air; les résultats de mes observations, sur ce point de la physiologie du *Bacterium rosaceum métalloïdes*, ne sont point encore concluants et sont encore à l'étude.

Fonctions zymotiques ou septiques. — Ainsi que je l'ai dit plus haut, cet organisme produit dans certains liquides un dégagement perceptible de gaz. Dans les cas où cela a lieu, et dans ceux où il ne s'en produit pas, dans les cultures liquides et dans les cultures solides, dans les tubes bouchés avec du coton et exposés à l'air, il n'émet aucune odeur forte ou fétide; mais, si les cultures sont renfermées dans un tiroir ou dans un espace confiné quelconque, on leur trouve une odeur nettement désagréable. L'intolérance de ce microbe à une température quelque peu élevée indique suffisamment qu'il ne peut avoir aucune action pathogénique directe sur les animaux à sang chaud. Il vit probablement en saprophyte sur les matières végétales et peut être largement répandu, car dans l'eau il ne produit pas de pigment et n'attire par conséquent pas l'attention.

L'action de la lumière sur son développement et sur ses fonctions chromogènes n'est pas très marquée. Nous devons remarquer, cependant, que les cultures exposées à la lumière du jour, surtout à la saison actuelle, passent au moins un temps égal dans l'obscurité. Pour expérimenter d'une façon concluante l'influence de la lumière, il faudrait exposer les cultures à l'action continue de la

(1) L'addition directe d'oxygène aux liquides de culture ne paraît cependant pas favoriser la production du pigment, et ne produit aucun changement dans les caractères de l'organisme; cette addition d'oxygène peut s'effectuer au moyen d'une solution de peroxyde d'hydrogène (HO) qui, si elle est suffisamment concentrée (10 vol.), peut être ajoutée aux milieux liquides, ainsi que je m'en suis assuré par quelques essais sans aucun risque de contamination.

lumière électrique, ainsi que l'ont fait, pour les plantes supérieures, Siemens et d'autres observateurs dans de remarquables travaux. Dans le cas de cultures sur blanc d'œuf coagulé, tenues complètement à l'obscurité, j'ai observé que la couleur qui se développait était un peu plus foncée que dans les cultures maintenues comme à l'ordinaire à la lumière du jour.

BIOGÉNÈSE DE L'HYDROGÈNE SULFURÉ

Par le Dr P. MIQUEL

Il y a environ onze ans, au mois de mars 1879, mon attention fut attirée par un fait assez singulier qui se renouvelait toutes les fois que je prenais de l'eau à un tube de caoutchouc adapté à la canalisation d'eau de Seine qui alimente mon laboratoire. L'eau qui avait séjourné 24 heures, ou un temps plus long dans ce tube, en sortait chargée de gaz acide sulfhydrique, dont l'odeur désagréable se répandait dans l'air et devenait perceptible à plusieurs mètres de distance du tube. Je consacrais à cette époque une bonne partie de l'année 1879 à étudier ce curieux phénomène, et la majeure partie des résultats de ces recherches fut publiée sous forme de conclusions dans l'*Annuaire de Montsouris* pour l'année 1880 et dans le *Bulletin de la Société chimique de Paris*, tome XXXII, août 1879.

Depuis l'année 1879, j'ai eu très peu le loisir de poursuivre mes études sur les organismes ferments du soufre, que j'ai maintes fois trouvé dans le cours de mes recherches sur les microbes du sol et des eaux; et dont j'ai eu l'occasion de faire de nombreuses cultures; cependant, ce que je pourrai ajouter aux conclusions qui ont été données jadis, se bornera pour l'instant à quelques indications spéciales relatives au caractère de cette fermentation. Comme je n'ai jamais donné le détail des analyses et des expériences auxquelles ces bactéries m'ont entraîné, je les publierai aujourd'hui telles que je les retrouve consignées dans les registres 12 et 13 de mon laboratoire. Quoique vieux de dix ans, ce travail, publié après celui qu'on a lu dans le précédent numéro des *Annales*, ne sera pas, je l'espère, dénué de tout intérêt.

I

Le tube de caoutchouc, primitivement infesté, fut coupé en morceaux et distribué par parties égales dans 12 gros tubes de verre étirés à la lampe aux deux extrémités et qu'on scella après les avoir à peu près complètement remplis d'eau bouillie et refroidie.

4 de ces tubes furent plongés pendant une heure dans l'eau bouillante, et 8 restèrent exposés à la température du laboratoire (15°-20°). Soixante-douze heures après, l'hydrogène sulfuré répandu dans l'eau des tubes de verre, fut dosé au moyen de la liqueur titrée d'iode usitée en sulfhydrométrie.

Les 4 tubes chauffés présentèrent une eau absolument dépourvue d'hydrogène sulfuré; les 8 autres accusèrent, au contraire, des quantités considérables de gaz sulfhydrique, dont le tableau suivant exprime la teneur en centimètre cube par litre.

Caoutchouc en tubes scellés (Hydrogène sulfuré par litre)

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
39cc 5	33cc 6	41cc 5	44cc 3	34cc 2	30cc 6	27cc 2	39cc 8

Ces 8 tubes furent alors privés complètement de leur eau sulfhydrique, balayés par un courant d'air filtré, puis remplis de nouveau d'eau bouillie.

Les tubes n^os^ *I* et *II* furent chauffés une heure à 100°, et ne présentèrent jamais la plus petite trace d'hydrogène sulfuré. Au bout de 72 heures, les tubes non chauffés donnèrent :

Caoutchouc en tubes scellés (Hydrogène sulfuré par litre)

III	IV	V	VI	VII	VIII
24cc 7	36cc 8	42cc 1	35cc 0	32cc 9	40cc 3

Pendant plusieurs semaines ces tubes, remplis à moitié de caoutchouc, continuèrent à fournir sans relâche du gaz acide sulfhydrique.

A l'examen microscopique, la matière légèrement muqueuse, répandue à la surface du caoutchouc fermenté,

montrait plusieurs variétés de microbes, mais surtout un bactérium ou un bacille à articles très courts et très grêles ; ce dernier organisme isolé put être cultivé dans les liqueurs minérales, dans l'urine, les liqueurs albumineuses, et se montra capable de déterminer la fermentation sulfhydrique dans tous les milieux où il eut à sa disposition du soufre à l'état de liberté, ou du soufre combiné à des matières plastiques ; il ne me parut jamais capable de s'attaquer aux sulfates métalliques, notamment aux sulfates alcalins et alcalino-terreux ; en tout cas, les expériences instituées dans ce but ne donnèrent aucun résultat positif.

Cependant, quand les milieux où se développe l'organisme sulfhydrogène renferment des sels minéraux peu stables comme les hyposulfites, on peut constater, en l'absence du soufre libre ou combiné aux substances albuminoïdes, un dégagement abondant d'hydrogène sulfuré. Je dois, à cet égard, prévenir le lecteur que le mécanisme de cette production gazeuse ne diffère pas de celle que je viens de décrire. Les acides organiques ajoutés à dessein aux liquides nutritifs ou résultant de l'action des bactéries, tels que les acides lactique, butyrique, acétique, etc., sont assez puissants pour décomposer à froid les hyposulfites et donner naissance à du soufre, lequel est hydrogéné à l'état de corps simple. Si on empêche cette précipitation en maintenant le liquide dans un léger état d'alcalinité, la précipitation du soufre ne se produit pas et l'on n'observe pas de production d'hydrogène sulfuré. Il va sans dire qu'une bactérie ou deux bactéries associées, produisant de l'acide lactique et de l'hydrogène, pourront déterminer la formation de l'hydrogène sulfuré, mais cette production réclame deux actions chimiques distinctes :

1° La décomposition des hyposulfites par un acide et précipitation du soufre ;

2° Hydrogènation du soufre précipité.

M. Holschewnikoff ne paraît pas s'être rendu un compte exact de l'hydrogènation du soufre oxydé qu'il paraît considérer comme un phénomène facile à mettre en évidence et qui est le résultat d'une action chimique en deux

temps, pouvant, je l'avoue, passer inaperçue aux yeux d'un expérimentateur non prévenu.

Le nom de *Bacterium sulfureus*, c'est-à-dire de bactérium soufré ou de soufre donné à cet organisme par M. Holschewnikoff ne me paraît pas très heureux; pour ma part, je proposerai le nom, plus conforme il me semble avec les fonctions biologiques du microbe, de *Bacillus sulfhydrogenus*, c'est-à-dire bacille producteur d'acide sulfhydrique. Quoiqu'il en soit de ces baptêmes dépourvus de tout intérêt, je préfère constater que l'eau ordinaire qui imbibe les tubes de caoutchouc va se montrer d'autant plus riche en acide sulfhydrique qu'on la chargera de substances capables de favoriser le développement du bacille.

Dans trois tubes scellés *A*, *B*, *C*, il est introduit du caoutchouc neuf coupé en anneaux, de l'eau ordinaire stérilisée, puis une trace de ferment sulfhydrique.

On procède ensuite régulièrement à des dosages tous les deux ou trois jours; pour cela, les tubes effilés aux deux extrémités, placés verticalement, sont vidés par leurs pointes scellées, brisées à travers le caoutchouc, et une pince de Mohr, adaptée à l'extrémité inférieure, gouverne la chute du liquide et en permet par conséquent l'écoulement gradué nécessaire au dosage précis.

L'eau tombe dans un volume connu de solution d'iode, additionnée d'un peu d'amidon cuit, et, par deux pesées effectuées avant et après l'expérience, on détermine la quantité d'eau sulfhydrique qu'il a fallu verser pour décolorer la solution. L'eau dosée, le tube est vidé entièrement et l'air qu'il renferme, toujours chargé de vapeurs sulfhydriques, est balayé par un courant d'air filtré. Pour une nouvelle expérience, on remplit de nouveau le tube avec de l'eau ordinaire stérilisée.

Les premiers jours, le ferment s'établit lentement sur le caoutchouc neuf, la teneur de l'eau en hydrogène sulfuré est faible; mais au bout de 5 à 6 jours, la masse du caoutchouc est infestée, et l'hydrogène sulfuré se produit avec rapidité.

Caoutchouc neuf infesté (Hydrogène sulfuré par litre)

Dosages	Tube A	Tube B	Tube C
Après 48 heures	3cc 0	5cc 2	2cc 5
Après 48 »	22 3	24 4	13 2
Après 48 »	29 0	23 3	26 1
Après 48 »	26 7	27 2	31 0
Après 72 »	46 4	50 5	42 1
Après 48 »	26 6	25 7	23 4
Après 72 »	53 8	49 4	40 6

Comme on voit, les nouveaux morceaux de caoutchouc vulcanisé deviennent rapidement une source constante de gaz sulfhydrique; il suffit simplement de les immerger à l'abri de l'oxygène atmosphérique dans de l'eau de rivière stérilisée. Toutes les 48 heures, on obtient de 20 à 30cc de gaz sulfhydrique par litre et de 40 à 50cc tous les trois jours. Je dois ajouter que l'eau des tubes ne perd pas sensiblement de sa limpidité, mais au bout de deux mois, le caoutchouc, mis en expérience dans ces conditions, ne produit plus une quantité aussi élevée de gaz fétide; devant ce fait, je me suis demandé si la quantité de soufre libre qui s'observe sur le caoutchouc vulcanisé, ayant diminuée et étant considérablement épuisée, la production de gaz n'était pas fonction de la présence de ce soufre libre.

Pour démontrer que cela était fort probable, c'est-à-dire qu'il fallait attribuer au soufre métalloïde la production de la majeure partie de l'hydrogène sulfuré, et non à la destruction lente du caoutchouc par le *Bacillus sulfhydrogenus,* je traitai pendant 2 heures le caoutchouc en fermentation, donnant 20 à 30cc de gaz toutes les 48 heures, par une dissolution bouillante de soude caustique, de façon à enlever une bonne quantité de soufre libre; le caoutchouc, ainsi bouilli, fut ensuite lavé avec une solution faible d'acide tartrique et un courant d'eau prolongé. Ce caoutchouc mis en expérience suivant le mode précédemment décrit, je vis la proportion du gaz baisser considérablement et se maintenir dans les limites indiquées par le second tableau :

Caoutchouc non bouilli à la soude (Hydrogène sulfuré par litre)

	Tube D	Tube E	Tube F
Après 2 jours	24cc 6	27cc 3	26cc 8
Après 2 »	25 0	24 9	28 6

Caoutchouc bouilli à la soude (Hydrogène sulfuré par litre)

	Tube D	Tube E	Tube F
Après 3 jours	4cc 4	4cc 6	3cc 3
Après 2 »	5 7	13 0	8 1
Après 5 »	10 4	17 6	12 5
Après 3 »	9 0	13 0	6 4
Après 2 »	6 9	11 8	4 9

On peut évidemment objecter que, sous l'action de la dissolution de soude bouillante, le caoutchouc avait en partie perdu ses qualités nutritives, que le bacille moins bien nourri, accomplissait alors une action sulfurante beaucoup moins énergique; on verra plus loin que cette hypothèse ne saurait rien enlever de la propriété déjà pressentie, que le microbe dont il est ici question peut hydrogéner directement le soufre libre. A ce titre, le *Bacillus sulfhydrogenus* devait posséder la faculté de dégager de l'hydrogène, ce dont on peut se convaincre avec les liqueurs minérales au tartrate d'ammoniaque semblables à celles de Cohn; dans lesquelles, malgré la présence d'une quantité considérable de sulfate de magnésie, le bacille ne dégage pas les moindres traces d'hydrogène sulfuré.

Ce bacille fut ensemencé dans un ballon de 650cc, rempli de liqueur de Cohn stérilisée, et dont le col, étiré en ∩ recourbé en forme de tube abducteur, venait se placer sous une éprouvette pleine de mercure; après une exposition de 5 jours à l'étuve à 30°, le liquide était devenu très trouble, son envahissement était dû au ferment sulfhydrique, et les gaz accumulés au sommet de l'éprouvette se composaient de 24cc d'acide carbonique absorbable par la soude, et de 6cc 2 d'hydrogène qui furent décelés par la détonation eudiométrique.

Une expérience semblable fournit 29cc d'acide carbonique, et 6cc 6 d'hydrogène.

En plaçant de la fleur de soufre dans la liqueur de Cohn,

mise ainsi à fermenter, on n'obtint plus que des quantités peu appréciables d'hydrogène ordinaire, mais en revanche il se forme de l'hydrogène sulfuré qui reste en grande partie dissous dans la liqueur.

A l'eau ordinaire employée jusque là dans ces sortes de fermentations, je substituai des liquides stériles plus fortement nutritifs, afin de favoriser la multiplication du ferment. J'employai de l'eau chargée de 4 °/₀ d'urine, que je versai dans quelques essais sur du caoutchouc vulcanisé déjà épuisé par des fermentations antérieures et donnant environ 18 à 20 cc de gaz en 48 heures. La quantité d'hydrogène sulfhydrique produit s'éleva subitement à 50 et 80 cc.

Caoutchouc vieux et urine diluée à 1/25 (Hydrogène sulfuré par litre)

	Tube G	Tube H
Après 3 jours................	79cc 4	87cc 8
Après 2 »	65 0	56 3
Après 3 »	70 9	69 4
Après 5 »	75 2	72 6
Après 5 »	77 3	81 5

Deux tubes *I* et *J*, à fragments de caoutchouc neuf, furent de même chargés d'eau contenant 4 °/₀ d'urine normale; la quantité d'hydrogène sulfuré produit s'éleva rapidement et dépassa 100 cc par litre, chiffre que je n'avais pas encore observé.

Caoutchouc neuf et urine diluée à 1/25 (Hydrogène sulfuré par litre)

	Tube I	Tube J
Après 2 jours.............	87cc 6	102cc 1
Après 3 »	109 3	114 0
Après 2 »	92 8	64 4

L'urine renfermant des matières organiques sulfurées, il était essentiel de s'assurer si cette production relativement considérable de gaz sulfhydrique n'était pas due à la décomposition de ces substances, bien qu'une constatation positive n'eût pas suffi à expliquer l'élévation de 60 à 100cc de gaz, qu'on observe dans deux tableaux qui précèdent. L'expérience démontra que l'urine diluée à 1/25, stérilisée

et privée d'oxygène dissous, fournissait une quantité d'hydrogène sulfuré égale à 8^{cc} par litre de liquide, ce qui ne saurait justifier cette recrudescence subite de $40-50^{cc}$ observée dans les milieux où l'on substitue à l'eau ce milieu plus nutritif. Le soufre libre du caoutchouc est donc la substance à laquelle on doit attribuer la majeure partie de la formation du gaz sulfhydrique. D'ailleurs, la liqueur minérale de Cohn, comme je l'ai déjà dit, ne donnant pas les plus faibles traces d'hydrogène sulfuré ; je pouvais m'adresser à elle, c'est ce qui fut fait dans les expériences qui suivent, où le caoutchouc vulcanisé, considéré comme l'élément porteur du soufre libre, fut remplacé par du soufre ordinaire concassé et bouilli plusieurs heures dans de l'eau.

II

Un flacon, d'un litre de capacité, reçut une forte couche de soufre grossièrement pulvérisé et de l'eau additionnée de liqueur de Cohn dans la proportion de 1/5; le flacon, bouché d'un tampon de ouate, fut exposé pendant une heure dans un bain d'air marquant 120°. Je ne disposais pas, à cette époque, d'un autoclave à vapeur surchauffée, et j'étais contraint d'employer, soit le bain à chlorure de calcium, pouvant chauffer à 110° les vases scellés que l'on y immergeait, soit le bain d'air où l'on faisait bouillir tranquillement les liquides pendant plusieurs heures. Dans ce flacon refroidi, et rempli complètement d'eau stérilisée, il fut introduit quelques gouttes d'une culture du *Bacillus sulfhydrogenus* dans le bouillon Liébig, et le flacon bien bouché fut placé à l'étuve à 30°.

Tous les 3 ou 4 jours, je substituai au liquide sulfhydrique produit de la liqueur de Cohn étendue et stérilisée, après avoir balayé l'air du flacon par un courant d'air filtré.

Le tableau qui suit résume les résultats obtenus.

Soufre et Liqueur de Cohn à 1/5 (Hydrogène sulfuré par litre)

		Le soufre en morceaux est remplacé par de la fleur de soufre	
Après 2 jours	81cc 9		
Après 2 »	118 3	Après 2 jours	149cc 1
Après 2 »	186 3	Après 3 »	187 6
Après 2 »	196 1	Après 2 »	132 6
Après 3 »	192 3	Après 2 »	166 3
Après 2 »	100 8	Après 3 »	131 7
Après 3 »	120 2	Après 2 »	129 5
Après 2 »	81 3	Après 3 »	174 2
Après 2 »	92 2	Après 3 »	202 7
Après 2 »	94 8	Après 2 »	153 2
Après 2 »	96 0	Après 3 »	165 4

Si l'on veut bien jeter un coup d'œil sur les deux colonnes de ce tableau, on remarquera que le dégagement d'hydrogène sulfuré s'accroît sensiblement quand on augmente la surface du soufre exposé à l'action des bactéries, mais il arrive cependant un instant, où pour un milieu nutritif considéré, la quantité d'hydrogène sulfuré fabriqué s'arrête et ne dépasse pas une limite facile à déterminer.

Fleur de soufre et Liqueur de Cohn (Hydrogène sulfuré par litre)

Après 2 jours...........	76cc 3
Après 2 »	119 2
Après 2 »	146 3
Après 3 »	127 9
Après 2 »	130 7
Après 2 »	110 9
Après 4 »	164 7
Après 5 »	190 6
Après 8 »	139 2

Quand le liquide nutritif est remplacé par de l'eau peu chargée de substances nutritives pour le ferment, il arrive souvent que ce dernier est lui-même anéanti par la dose maximum d'hydrogène sulfuré dégagé; une fermentation en bonne voie s'arrête alors et ne reprend son activité qu'après une période de temps assez longue de 10 à 20 jours,

autrement dit, quand le faible nombre de germes ou de bactéries adultes, qui ont résisté à l'action toxique du gaz sulfhydrique, ont pu se multiplier en très grand nombre.

Je dois ajouter encore que le liquide de Cohn, formé, comme on sait, de tartrate d'ammoniaque et d'autres sels minéraux, ne donne jamais naissance, dans ces sortes de fermentations, à des sulfures alcalins; l'hydrogène sulfuré qu'il contient en solution ne fournit aucune réaction colorée avec le nitro-prussiate de soude.

Pour clore ces expériences effectuées avec le soufre libre, je rapporterai les résultats fournis par une fermentation sulfhydrique étendue du 11 juillet au 15 septembre 1879, au cours de laquelle, si ma mémoire est fidèle, j'eus l'honneur de recevoir la visite de M. Duclaux, alors professeur à l'Institut agronomique, et que cette production curieuse d'hydrogène sulfuré parut assez vivement intéresser.

Un gros tube de verre, rempli dans toute sa longueur de morceaux de soufre traités par de l'eau bouillante, reçut périodiquement, comme dans mes recherches précédentes, du liquide de Cohn au 1/5 stérilisé. Une série de 27 dosages, pratiqués toutes les 48 ou 72 heures, donnèrent les résultats qui suivent :

Soufre et Liquide de Cohn à 1/5 (Hydrogène sulfuré par litre)

Après 3 jours	129^{cc} 5	Après 2 jours	174^{cc} 5	Après 2 jours	188^{cc} 8
Après 2 »	175 9	Après 3 »	175 7	Après 3 »	164 7
Après 1 »	120 0	Après 2 »	198 4	Après 2 »	214 6
Après 2 »	176 1	Après 2 »	191 0	Après 3 »	186 3
Après 2 »	155 4	Après 3 »	188 2	Après 2 »	159 7
Après 2 »	157 6	Après 2 »	191 3	Après 2 »	143 3
Après 2 »	134 7	Après 3 »	202 7	Après 3 »	161 0
Après 3 »	150 6	Après 2 »	234 4	Après 4 »	154 4
Après 2 »	143 6	Après 2 »	194 8	Après 5 »	189 6

On constate dans les chiffres qui précèdent des variations souvent fort grandes dans les quantités d'hydrogène sulfuré produit dans le même laps de temps. Cela tient vraisemblablement à l'élévation de la température du tube exposé durant cette expérience à la température de mon labora-

toire; ces variations peuvent, de même, tenir à la destruction partielle du ferment par le gaz sulfhydrique dégagé en excès, ou encore à son entraînement à l'extérieur du tube au moment des vidanges périodiques.

On exagère considérablement la quantité d'hydrogène sulfuré produit en plaçant les vases où s'effectue la fermentation, à l'étuve vers 30°, ainsi que l'exemple suivant le démontre clairement.

Le 13 juillet 1879, un flacon contenant une forte couche de soufre et une solution de tartrate d'ammoniaque à 1 % dans de l'eau de la Seine stérilisée, fut placé à 30°; le tout convenablement ensemencé avec le bacille sulfhydrogène; ici les dosages furent pratiqués successivement en empruntant 25 à 30^{cc} du liquide fermenté qu'on remplaçait par du liquide neuf stérilisé.

Le 15 juillet 1879,	29^{cc} 0	d'hydrogène sulfuré	par litre.
Le 19 »	244 0	»	»
Le 21 »	274 5	»	»
Le 22 »	292 2	»	»

Après une attente plus longue, la quantité d'hydrogène sulfuré n'augmenta pas, au contraire, elle décrût lentement, vraisemblablement par suite de l'oxydation que subissent toutes les solutions d'hydrogène sulfuré dans l'eau; au bout d'un mois, le ferment était dépourvu de toute activité, et une série d'ensemencements démontra qu'il était mort.

Dans une nombreuse suite d'expériences semblables, c'est en vain que j'ai tenté d'obtenir des solutions chargées de plus de 300^{cc} d'hydrogène sulfuré par litre; cette limite paraît donc un maximum difficile à dépasser. Si, au contraire, on balaye par un courant très lent d'azote pur le vase où s'opère la fermentation sulfhydrique au sein d'un liquide purement minéral, la quantité d'hydrogène sulfuré produit correspondant à la destruction microbienne de 10 grammes de tartrate d'ammoniaque dissous dans 1000 centimètres cubes d'eau peut atteindre plusieurs litres.

En faisant traverser bulle à bulle, par un courant d'azote, un vase contenant du soufre en fermentation, et en faisant

barboter cet azote dans deux flacons laveurs pleins d'une solution iodurée d'iode, on parvient à enlever au soufre, par voie d'hydrogénation biologique, plusieurs grammes de sa substance. Dans une première expérience, qui dura 30 jours, je recueillis, dans les flacons laveurs, 2 gr. 114 de soufre; dans une seconde, qui dura 50 jours, 3 gr. 291. Je ne pense pas qu'on puise démontrer avec plus d'évidence que le soufre est hydrogéné directement par le *Bacillus sulfhydrogenus*.

(A suivre).



REVUES ET ANALYSES[1]

Dangeard. — **Mémoire sur les Chytridinées** (*Le Botaniste*, fasc. II, avec 2 pl., Caen, novembre 1888).

M. Dangeard, regrettant de ne pouvoir entreprendre de donner une Monographie des Chytridinées dont la nécessité se fait vivement sentir, expose dans ce mémoire qu'il se bornera à apporter de nouveaux matériaux d'étude, mais en y joignant une partie historique et des considérations critiques qui pourront servir au besoin pour une future révision de la famille.

Il commence donc par résumer aussi complètement que possible l'histoire des travaux qui, depuis ceux d'Alex. Braun (1855), et successivement de Schenk, Cienkowski, de Bary, Woronin, Max. Cornu, Kny, Cohn, Fischer, Nowakowski, Schröter, Sorokin, Fisch, Rosen, Zopf, enfin de Giard (1888), ont fait connaître les types génériques et spécifiques des Chytridinées. Un des résultats assez curieux de ces divers travaux a été de permettre de constater que le parasitisme destructif de ces Champignons, qui semblait d'abord ne s'exercer que sur des Algues, puis sur des plantes aquatiques, étendait son action non seulement sur des végétaux aériens, mais sur d'autres espèces de Chytridinées ou sur des Saprolégniées, puis sur des Rhizopodes, et même sur des Tuniciers (*Nephromyces* Giard). M. Dangeard fait à ce propos ressortir l'intérêt que présente cette récente découverte en ce que les Chytridinées doivent se rencontrer en grand nombre dans les organismes animaux, ce qui ne peut manquer d'ajouter de l'importance à leur étude.

L'auteur fait suivre cet historique de la description des espèces nouvelles dont il a observé les diverses phases biologiques. Il en profite pour disposer ces espèces dans un ordre méthodique qui permet de mieux se rendre compte de leur évolution progressive. Cette classification est basée sur les caractères suivants :

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

1[er] *Groupe.* — Pas de mycélium : *A*. Sporange simple; *B*. Sporange composé.

2[e] *Groupe.* — Un mycélium : *A*. Plusieurs filaments nourriciers partant de points différents de la surface du sporange à une seule ouverture; *B*. Un seul filament nourricier partant de la base du sporange à une seule ouverture; *C*. Un filament simple ou ramifié; sporange à plusieurs ouvertures.

On pourrait se demander d'abord s'il n'y aurait pas lieu d'intervertir l'ordre de ces trois dernières sections, en prenant pour caractère principal l'état de développement du mycélium? Puis, si l'on ne trouverait pas des types se rapprochant en quelque sorte de ceux du 1[er] groupe et chez lesquels se montreraient les premiers indices d'un mycélium rudimentaire? Dans tous les cas, il est très intéressant déjà de constater que les Chytridinées monadiformes se relient à des Chytridinées mycéligènes, lesquelles se rattachent elles-mêmes aux formes plus compliquées des Saprolégniées et des Péronosporées.

Dans le 1[er] groupe à sporange simple, M. Dangeard classe son *Sphœrita endogena*, parasite des Euglènes et des Rhizopodes, et une nouvelle espèce, l'*Olpidium Sphœritœ,* qui, chose singulière, est un parasite du *Sphœrita endogena.* Ce *Sphœrita* a pour caractère de présenter, en même temps que des sporanges, des kystes durables, c'est-à-dire qui ne germent qu'après un temps plus ou moins long et servent ainsi à la conservation de l'espèce. Or, l'*Olpidium Sphœritœ* vit aux dépens du plasma de ces kystes : il y développe 5-6 sporanges qui, à leur maturité, en perforent la membrane pour s'ouvrir dans l'eau ambiante et y laisser échapper leurs zoospores. La présence de ces sporanges dans le kyste du *Sphœrita* prouve suffisamment le parasitisme de cet *Olpidium,* dont les zoospores diffèrent d'ailleurs de celles de l'hôte.

Parmi les espèces du 1[er] groupe à sporange composé, M. Dangeard place le *Micromyces Zygogonii* sp. nov., parasite de certaines Conjuguées appartenant au genre *Zygogonium.* Le nouveau genre *Micromyces* se caractérise par des sphères plasmiques à membrane épineuse ou rugueuse, produisant soit un sporange, composé le plus souvent de 4 cellules qui renferment chacune une centaine de zoospores, soit un kyste durable à membrane épaissie.

Le 2[e] groupe comprend les genres à mycélium simple ou ramifié, qui se différencient par des sporanges à une ou plusieurs ouvertures. Les nouvelles espèces de ce groupe, décrites avec beaucoup de détails par M. Dangeard, sont les *Chytridium Brauni, C. zoophtorum, C. Brebissonii, C. simplex, C. Elodeœ,* et les *Rhizidium Euglenœ* et *catenatum.* L'auteur fait connaître les phases

biologiques de ces diverses espèces ainsi que leurs caractères différentiels, et les fait suivre de quelques observations qui lui sont personnelles sur les *Chytridium globosum* Al. Braun et *Rhizidium Lagenaria* Schenk.

Le mémoire se termine par des considérations générales fort importantes qui se déduisent logiquement des chapitres qui précèdent. Pour M. Dangeard, les Chytridinées occupent la base du groupe des Champignons; leur ressemblance est telle avec les Monadinées zoosporées que les Chytridinées ne s'en différencient que par le mode de nutrition. C'est pour ne pas avoir tenu compte de ce caractère de premier ordre que M. Sorokin a été conduit à considérer les Monadiens comme une sous-famille des Chytridiacées. Or, chez les Monadiens, les aliments sont englobés, puis digérés dans le plasma qui se débarrasse des résidus avant de former ses zoospores, tandis que chez les Chytridinées la nutrition a lieu uniquement par une digestion superficielle. Quant aux affinités des Chytridinées que de Bary faisait dériver, par des dégradations successives dues au parasitisme aquatique, des Mucorinées ou des Ancylistées, pour les espèces à mycélium, et pour celles qui en sont dépourvues, d'Algues inférieures, M. Dangeard dit qu'il les comprend d'autre façon : « Les Algues, ainsi que les Champignons, se rattachent aux Monadinées : le mode de nutrition a été le point de départ de la différenciation végétale; mais les deux vont en divergeant dès le début, et ne s'envoient entre eux aucune anastomose. » Nous croyons aussi qu'il ne faut pas trop abuser de ce que l'on considère comme des causes de rétrogradation et en arriver à ériger une sorte de système d'évolution régressive. C'est pourquoi nous inclinerions plutôt à partager sur ce point l'opinion de M. Dangeard.

Enfin, après avoir exposé les différents procédés d'étude employés pour faciliter les recherches dans cette famille des Chytridinées, qui pourrait bien attirer sur elle l'attention au même titre que les *Microbes,* l'auteur résume les principaux points qui paraissent suffisamment établis dans la biologie de ces êtres : 1° l'impossibilité de vivre dans un milieu putréfié; 2° l'action favorable de la lumière pour l'émission des zoospores; 3° la nécessité de la présence de l'eau pour cette émission; 4° l'influence contradictoire de la température sur le développement des espèces. M. Dangeard souhaite finalement qu'on essaie sur les Chytridinées l'action des substances nocives dont les effets sont connus sur les Péronosporées.

E. R.

G. Pagès. — **Recherches sur la pexine** (présure des auteurs français, labferment des auteurs allemands. — Paris, 1888).

Dans une thèse soutenue récemment devant la Faculté de médecine de Paris, M. Pagès expose ses recherches sur le ferment capable de coaguler le lait dans un milieu neutre ou franchement alcalin.

L'auteur signale les microorganismes, tels que les tyrothrix, qui sécrètent de la pexine, mais il ne tient aucun compte de l'action de ces agents lorsqu'il étudie les propriétés coagulantes de l'urine. C'est que, à l'exemple des auteurs allemands qui ont fait des recherches analogues, il considère l'action de ces ferments comme négligeable ; et cela, parce que les expériences durent peu et que l'urine est acidifiée par l'acide chlorhydrique à raison de 1cc d'acide à 6/1000 pour 10cc de liquide.

Il nous semble que ces recherches, pour être à l'abri de toute critique, devraient être reprises en se mettant à l'abri des microorganismes. Il est vrai qu'une grave difficulté se présente. Le lait ne pouvant être filtré, ne peut être stérilisé que par l'ébullition ; or, le lait bouilli résiste dix fois plus que le lait cru à l'action coagulante de la pexine. Il devient donc impossible de faire manifester des traces de cette diastase coagulante.

Ne serait-il pas possible de recueillir le lait sans microbes, et de faire arriver ensuite dans ce liquide de l'urine filtrée ? — Nous laissons à l'auteur le soin de résoudre la question.

Dans le courant de ses recherches sur la pexine végétale contenue dans diverses plantes du genre Cynara, M. Pagès a rencontré, en même temps que le ferment coagulant, une certaine proportion de pepsine, dont il démontre l'existence en faisant agir sur de la fibrine une macération des semences du *Cynara carduncculus* (artichaut cardon), le tout saturé de thymol.

Comme l'auteur le fait observer, il n'est pas certain que le thymol écarte, en même temps que les microbes de la putréfaction, tous ceux qui agissent sur les matières albuminoïdes. La critique qu'il adresse à ses propres recherches, il l'adresse aussi à celles des auteurs allemands qui ont affirmé l'existence de la pepsine dans l'urine normale.

Nous sommes entièrement de cet avis ; et nous croyons qu'il est nécessaire de reprendre ces expériences, en se mettant à l'abri des microorganismes, non pas par l'ébullition qui détruit la pepsine, mais par la filtration des liquides que l'on étudie.

Ceci prouve une fois de plus l'importance des recherches de microbiologie dans l'étude des fonctions qui s'accomplissent chez les animaux supérieurs, et notamment de la fonction digestive.

Dr T.

GOURRET et RŒSER. — **Description de deux infusoires du port de Bastia** (*Journal de l'Anatomie et de la Physiologie*, 1888, p. 656-664, pl. XIX).

Les auteurs étudient le *Strombidium sulcatum* et une forme qu'ils décrivent comme nouvelle, tant génériquement que spécifiquement, le *Glena corcica*. Il nous paraît que cette nouvelle forme ne diffère en rien de celle déjà connue et décrite par Dujardin, la *Pleuronema marina*, dont nous avons repris l'étude en 1886, et l'on peut s'étonner à bon droit que MM. Gourret et Rœser n'aient même pas cité, parmi les affinités de leur *Glena*, le genre *Pleuronema*, dont les caractères génériques sont cependant exactement identiques.

F. D.

Dr K. MŒBIUS. — **Fragment d'une faune des Rhizopodes de la baie de Kiel** (*Abhandl. der Konigl. Preuss. Akadem. der Wissenschaften zu Berlin* vom Jahre 1888, S. 1-31, Taf. 5-9, Berlin, 1889).

Ce travail est la continuation des « *Fragments d'une faune des Infusoires de la baie de Kiel* » parue dernièrement, et dont le lecteur trouvera l'analyse dans un de nos précédents numéros. Pour recueillir ses matériaux d'étude, le Dr Mœbius s'est servi de lames de verre insérées dans les rainures d'un bloc de bois fixé à un pieu et plongeant dans l'eau à un mètre environ au-dessus du fond. Les lames, retirées après quelques semaines ou quelques mois, portaient sur leurs faces un dépôt assez abondant dans lequel se trouvaient les Rhizopodes.

Les espèces étudiées sont, pour les Radiolaires, *Dictyocha speculum* Ehr. et *D. fibula* Ehr.; pour les Héliozoaires, *Actinolophus pedunculatus* Schulze, *Actinophrys sol* Ehr., espèce que l'on trouve très communément dans les eaux douces, mais que, d'après l'auteur, Stein avait rencontrée dans l'eau de mer en 1852, considérée comme une nouvelle espèce, puis rapportée enfin, dans la t. II de son *Organismus*, à l'espèce d'eau douce. Le Dr Mœbius confirme pour l'*Actinophrys* l'observation de Greeff, qui avait reconnu que les axes des pseudopodes s'étendaient intérieurement jusqu'au noyau. Il décrit une nouvelle espèce de *Vampyrella*, *V. pallida*. Parmi les Foraminifères, *Polystomella striato-punctata* F. M., *Nonionina depressula* W. et J., *Lithocolla globosa* Sch., *Pleurophrys lageniformis* F. G. Sch., *Dendrophrya radiata* St. W., *Quinqueloculina fusca* Brady, *Spiro loculina hyalina*, Sch., *Platoum parvum* Sch. *Gromia oviformis* Dej., *G. Gracilis*, n. sp. qu

se distingue des espèces déjà connues par sa taille beaucoup plus faible, son plasma incolore et son style pseupodique directement rattaché au corps sans filaments secondaires. *Cyphoderia tunicata* Schulze, *C. Margaritacea* Schlum. Parmi les Trichosa *Trichosphœrium Sieboldii* Schn. Parmi les Amœbiens, *Biomyxa vagans* Leidy, *Amœba radiosa* Ehr., *A. prehensilis* n. sp., *A. Villosa* W., *A. crystalligera* Gr., *A. flava* Gr., *A. Verrucosa* Ehr. Indépendamment de ces formes qu'il a pu déterminer, l'auteur en a rencontré cinq autres dont la spécification lui a paru douteuse.

F. D.

Gourret et Rœser. — **Contribution à l'étude des Protozoaires de la Corse.** Archives slaves de Biologie, t. VIII, 1888. pages 139-204, pl. 13-15.

Le port de Marseille, dont MM. Gourret et Rœser ont déjà étudié la faune protistologique, présente avec celui de Bastia certaines analogies quant à la composition de ses eaux. Comme lui il reçoit des détritus de toutes sortes par les égouts qui s'y déversent, et, comme lui également, il est en communication avec un cours d'eau qui en modifie plus ou moins le degré de salure. Il était donc intéressant de comparer les faunes de ces deux localités. 57 espèces ont été recueillies et déterminées. Plusieurs ont dû faire l'objet de la création d'un genre ou d'une espèce, et ce sont les seules que nous mentionnerons ici, regrettant de ne pouvoir, faute de place, en donner le diagnose.

Tentaculifères — *Hemiophrya Lacazei.*

Ciliés — *Colpodopsis latifrons. Cryptochilum fusiforme. Aulax paucisetosa. Mesodinium pulex, var. striata. Clypeolum corsicum. Chilodon auricula. Ægyria semilunaris. Æ. cristata. Æ. compressa. Kerona ciliata. Amphisiella Marioni. Holosticha coronata. Stichochœta corsica. Stylonethes fusiformis. Psilothrix ovalis.*

Flagellés — *Paramonas ovalis. Dinomonas acuta. D. mediocannellata.*

Rhizopodes — *Amœba monociliata.*

Ce travail met en lumière un fait intéressant de la physiologie des Protozoaires, à savoir la possibilité, pour certaines espèces, de se rencontrer indifféremment dans les eaux douces ou dans les eaux salées. Signalée par Claparède et Lachmann, Cohn, etc., cette particularité a été reconnue propre à un grand nombre d'espèces par MM. Gourret et Rœser. Qu'il nous soit permis, en

terminant cette courte analyse, de regretter que les auteurs aient complètement négligé la mensuration de leurs nouvelles espèces. En n'indiquant, comme ils l'ont fait, que les numéros de l'oculaire et de l'objectif qui ont servi à l'observation, ils imposent aux observateurs qui contrôleront leurs travaux une besogne un peu ingrate et qui manquera toujours de précision.

F. D.

Dr G. M. Sternberg. — **Recherches récentes sur l'étiologie de la fièvre jaune** (*Transactions of the Association of american physicians*, september 1888, 1 pl.).

Ces recherches font suite à celles qui ont été entreprises depuis quelque temps déjà par l'auteur sur le même sujet. Le Dr Sternberg a eu l'occasion d'exécuter à la Havane 10 autopsies de cas typiques de fièvre jaune observés à l'Hôpital militaire, et de faire des cultures avec les divers matériaux provenant de ces autopsies. Voici, résumé brièvement, le résultat de ses observations.

Les cultures inoculées avec du sang extrait du cœur des dix sujets autopsiés sont demeurées stériles 8 fois sur 10. Dans les 2 cas exceptionnels où l'on vit paraître des colonies, celles-ci étaient composées dans un cas du bacille *a*, et dans l'autre du bacille *a* associé à une forme un peu différente. Nous décrirons tout à l'heure cet organisme désigné par l'auteur au moyen d'une lettre de l'alphabet.

Dans 7 cas, les cultures d'urine demeurèrent stériles; dans 3 cas, elles donnèrent: l'une, le bacille *a* associé à deux ou trois autres formes; l'autre, le bacille liquéfiant *e* avec pigment vert; et, enfin, la dernière un bacille ressemblant à *a* mais non identique.

Dans 4 cas, le rein fournit des cultures stériles; dans 6, l'on trouva des colonies. Bacille *a* dans 4 cas, avec des bacilles plus ou moins différents. Dans un cas, un bacille liquéfiant vert; et dans un autre, le *Bacillus termo*.

7 inoculations faites avec la substance du rein demeurèrent stériles. 2 autres donnèrent le bacille *a*, et une le *Bacillus termo*.

L'estomac et l'intestin ont donné une grande variété de microorganismes.

Le bacille *a* est une fois à une fois et demie aussi long que large, d'un diamètre de 0,6 μ. Ses dimensions varient considérablement. Sur la gélatine, il forme des colonies qui, lorsqu'elles sont jeunes, sont colorées en jaune-paille et deviennent plus tard d'un brun pâle. Elles sont sphériques homogènes ou lobées présentant souvent l'apparence d'une rosette. Cette apparence n'est pas

particulière à ce bacille, car l'auteur l'a trouvée chez une forme qu'il avait décrite dans un travail antérieur sous le nom de bacille *f*.

Les autres bactéries ont été décrites dans le même travail.

Jamais l'isolement de ces diverses formes n'a pu être obtenu d'une façon satisfaisante par cultures successives; tout fait prévoir qu'elles vivent associées, réunies en petites masses, telles qu'on les trouve sur les cultures primitives.

En résumé, le travail du Dr Sternberg, venant confirmer ses premières observations démontre, que dans les organes des individus morts de fièvre jaune il existe un certain nombre de bactéries tout à fait différentes les unes des autres, bactéries qui n'ont pas plus l'une que l'autre de pouvoir pathogénique spécial, et l'on peut conclure à bon droit, ainsi que le fait l'auteur, que « l'agent infectieux de la fièvre jaune n'a point encore été découvert.

F. D.

A. Chauveau. — **De la transformation des microbes pathogènes en microbes simplement saprogènes et vice versa** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CVIII, pages 319 et 379).

Dès l'année 1884, M. Chauveau était parvenu, en cultivant pendant quelques générations la bactéridie charbonneuse sous une pression d'air voisine de 9 atmosphères, à amoindrir considérablement les qualités virulentes du *Bacillus anthracis*, et à l'atténuer au point de le rendre inoffensif pour le mouton.

Comme départ de nouvelles recherches, M. Chauveau a pris deux virus figurés A et B, employés pour la vaccination charbonneuse, la virulence de B étant légèrement supérieure à la virulence de A.

Dès la première génération obtenue dans une culture soumise à l'oxygène comprimé, le virus A avait complètement perdu son pouvoir pathogène, même à l'égard des souris et des cobayes. Fait digne d'être mentionné, les cultures de A, ainsi modifiées, donnèrent, dans les conditions normales de culture au contact de l'air, un microbe également dépourvu de toute virulence.

Le second virus charbonneux plus actif B ne déchut du son rôle d'organisme pathogène qu'à la seconde génération, sous pression augmentée d'oxygène.

Dans les deux cas cette destruction si complète du pouvoir noscif, ne s'accompagne d'aucune modification appréciable dans la forme du microbe, ni dans son pouvoir végétatif; mais, une remarque de la plus haute importance fut faite alors par M. Chau-

veau : les cultures inoffensives de l'organisme infectieux, incapables de produire le charbon, et pouvant être inoculées sans danger, continuèrent à conférer l'inocuité aux moutons et aux solipèdes domestiques.

L'on sait que, par des passages successifs des microbes à travers le corps des animaux, il est possible d'exalter la virulence des espèces pathogènes, cependant ce passage reste sans effet pour les bactéries d'une virulence nulle ; dans ces cas, les cultures artificielles pratiquées dans les laboratoires, et dans des conditions spéciales, semblent, d'après M. Chauveau, pouvoir seules la leur restituer. Les *Bacillus anthracis* cultivés dans des liquides faiblement chargés de liquides nutritifs, et sous une pression inférieure à celle de l'atmosphère, ont pu récupérer leur action malfaisante, teur des souris et des cobayes ; toutefois, ces virus infectieux renforcés, ou plutôt reconstitués, n'ont pas déterminé des accidents mortels chez les moutons et les quadrupèdes de plus forte taille ; il est vraisemblable que ce but pourra être atteint dans de nouveaux essais de culture.

Voici, d'après M. Chauveau, les conditions qui favorisent la reviviscence de la virulence disparue. Les espèces atténuées jusqu'à inocuité parfaite doivent être cultivées *in vitro* dans du bouillon très peu nutritif, additionné de sang frais, et imparfaitement soustrait à l'action de l'oxygène de l'air.

Bien que l'hypothèse de la sécrétion par les microbes pathogènes de deux substances : l'une infectieuse et l'autre vaccinale, soit des plus séduisantes et puisse, dans les faits considérés, expliquer les effets des microbes noscifs soumis à la prédominance de tels ou tels moyens de culture qui favoriseraient l'une ou l'autre de ces sécrétions. L'illustre savant dont nous analysons à regret trop succinctement les communications à l'Académie, pense qu'il est plus vraisemblable d'admettre qu'il y a seulement, dans ces cas, amoindrissement ou exagération de la production d'une substance toxique unique, laquelle peut, en raison de sa rareté ou de son abondance, produire des effets simplement vaccinaux ou mortels. Les recherches de M. Chauveau sont donc les premières qui établissent, sur les bases d'une expérimentation inattaquable, que les microbes pathogènes peuvent perdre complètement leur virulence vis-à-vis des animaux les plus sensibles, et la récupérer dans des conditions nettement définies ; de plus, que les variations d'action, chez les schizomycètes, ne sont pas corrélatives de transformations spécifiques parallèles.

Dr M.

W. Lœwenthal. — **Expériences biologiques et thérapeutiques sur le choléra** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CVII, page 1169.)

Tandis que plusieurs auteurs cherchent à rendre l'organisme humain réfractaire au choléra indien, au moyen des inoculations préventives, M. Lœwenthal pense que la thérapeutique n'est pas désarmée devant cette redoutable maladie, et, par une suite d'expériences bien dirigées, cet observateur est conduit à une solution qu'il expose peut-être avec trop de confiance.

M. Lœwenthal étudie d'abord les conditions de culture où le spirille de Koch sécrète son virus morbide en plus grande abondance. Un des *substrata* les plus favorables à cette sécrétion serait formée de viande de porc hachée (500 gr.), de pancréas de porc (200 gr.), de farine légumineuse de Maggi ou de Groult (100 gr.), de peptone (15 gr.), de sucre de raisin (10 gr.), de sel de cuisine (5 gr.), le tout délayé dans de l'eau ou du lait et stérilisé à la vapeur. L'absence, dans ce milieu de culture, du pancréas de porc, rend inoffensif le jus de la bouillie infestée par le spirille ; or, comme il semble résulter des recherches de plusieurs auteurs que le suc pancréatique est un aliment dont s'empare le bacille-virgule pour produire à nos dépens la maladie ou la mort, il a semblé judicieux à l'auteur de ce mémoire qu'une substance qui pourrait rendre infécondes et sans action sur l'économie animale les cultures du spirille dans le suc du pancréas, serait le remède du choléra.

Les substances qui jouissent de cette propriété doivent être fort nombreuses, cependant M. Lœwenthal pense que le *Salicylate de phénol*, ou *Salol*, découvert par M. Nencki, est très précieuse à cet égard. Sous le poids de 10 gr. pour 1000 gr. de la bouillie précitée, les bacilles-virgules restent inactifs dans ce milieu de culture qu'ils affectionnent.

Généralement on doit comparer avec beaucoup de défiance les expériences exécutées *in vitro* de celles que le clinicien est appelé à effectuer sur le malade. L'histoire contemporaine de la médecine est pleine de ces rapprochements trop hâtifs, de ces traitements rationnels et scientifiques qui ont piteusement échoués devant le génie malfaisant des microbes. Le *Salol*, comme le dit M. Lœwenthal, est sans doute un remède d'une toxicité inférieure à bien d'autres, mais on ne peut refuser raisonnablement aux médecins quelques statistiques sincères et bien observées, sur lesquelles ils puissent baser leur foi.

Dr M.

HUEPPE. — **De la virulence des parasites du choléra** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CVIII, page 105).

LŒWENTHAL. — **Sur la virulence des cultures du choléra et de l'action que le Salol exerce sur cette virulence** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CVIII, page 192).

Le mémoire dont l'analyse précède a suscité de la part du Dr Hueppe une note à l'Institut de France, qui est à la fois une revendication de priorité sur l'emploi thérapeutique du *salol*, du *tribromophenol* et du *salicylate de bismuth* dans le choléra indien et une explication de la variabilité de virulence du spirille de Koch observé par M. Lœwenthal dans ses cultures. Pour le Dr Hueppe, l'anaérobiose est une cause d'exagération de la virulence des ptomaïnes secrétées par ce microbe; l'aérobiose, une cause d'affaiblissement et de destruction de ces mêmes toxines.

M. Lœwenthal répond que dans ses cultures le bacille cholérigène ne devient virulent qu'en présence du suc pancréatique et que la vie du spirille, au contact ou à l'abri de l'air, n'exerce pas une influence appréciable sur la toxicité des poisons solubles secrétés.

Cette discussion nous paraît fort intéressante au point de vue scientifique; mais enfin, le *Salol* est-il, oui ou non, l'antidote du choléra asiatique?

Dr M.

E. METCHNIKOFF. — **Contribution à l'étude du pléomorphisme des bactériens** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 61).

M. Metchnikoff étudie les divers aspects que peut présenter le *Spirobacillus Cienkowskii* vivant en parasite morbigène dans le corps des Daphnies. Dans le premier stade, ce spirobacille se présente sous la forme de bactériums ovales volumineux, qui deviennent bientôt des bactériums droits, puis passent à l'état de gros bacilles courbes qui se transforment plus tard en spirilles, en petits bacilles virgules, et se résolvent finalement en filaments à l'extrémité desquels peuvent apparaître des spores. Les faits de pléomorphisme sont très fréquemment observés par les micrographes. Pour ma part, j'ai déjà depuis longtemps figuré et décrit le passage des bactéries filamenteuses à l'état de microcoques ; ce qui est d'ailleurs d'observation vulgaire dans les cultures pures. Cependant, il est rare de rencontrer chez les schizomycètes cette multiplicité de formes transitoires qu'a étudiée M. Metchnikoff

chez le spirobacille des Daphnies ; à ce titre, sa communication est des plus curieuses, et nous souhaitons que ce savant puisse isoler cette bactérie à l'état de pureté et suivre ses métamorphoses dans des milieux nutritifs artificiels privés de tout microbe.

Dr M.

J. E. Abelous. — **Recherches sur les microbes de l'estomac à l'état normal et leur action sur les substances alimentaires** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CVIII, p. 310).

M. Abelous a pu isoler de l'estomac de l'homme 16 espèces de microbes, dont sept déjà connues : la *Sarcina ventriculi*, le *Bacillus pyocyaneus,* le *Bacterium lactis ærogenes,* le *Bacillus subtilis*, le *Bacillus mycoïdes,* le *Bacillus amylobacter,* le *Vibrio rugula*, et neuf autres espèces encore non décrites comprenant un coccus et huit bacilles.

M. Abelous a fait agir ces divers organismes sur le lait, l'albumine, la fibrine, le gluten, diverses espèces de sucres et l'amidon. Des essais auxquels il s'est livré, il est amené à conclure : que ces microbes exercent une action plus ou moins énergique sur les substances alimentaires; que, d'après la connaissance du temps minimum nécessaire à la transformation de quantités appréciables de matières alimentaires, le vrai théâtre de l'action de ces microorganismes n'est pas l'estomac, mais l'intestin; qu'enfin, ces bactéries, entraînées dans l'intestin avec le chyme, doivent jouer un rôle important dans le phénomène de la digestion.

Dr M.

S. Arloing. — **Effets généraux des produits de culture du** *Bacillus heminecrobiophilus* (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. CVIII, p. 458).

M. Arloing a poursuivi ses recherches sur le bacille dont la description a été donnée dans le nº 5 des *Annales,* et il résulte de ses nouvelles expériences les conclusions suivantes :

1º Le *Bacillus heminecrobiophilus* ne confère pas l'immunité;

2º Les produits solubles qu'il fabrique peuvent donner la mort s'ils s'accumulent dans le sang;

3º Ces produits, pyrétiques et vomitifs, sont plus actifs quand ils se sont formés dans le bouillon de culture que dans un organe nécrobiosé;

4º Ils doivent surtout ces propriétés à des substances précipitables par l'alcool.

Dr M.

S. Winogradsky. — **Recherches physiologiques sur les sulfobactéries** (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 49).

L'auteur de ce mémoire rappelle tout d'abord les difficultés qu'on éprouve à cultiver en dehors des eaux minérales sulfureuses les *Beggiatoa*, les *Thiotrix*, les *Chromatium*, etc.; malgré ces difficultés pratiques, on peut parvenir à faire végéter les sulfobactéries pendant plusieurs semaines sous le microcope, à suivre pas à pas leur développement et noter les phénomènes visibles de nutrition qui l'accompagnent. On sait que les *Beggiatoa* renferment dans l'intérieur de leurs filaments de nombreux grains de soufre. Beaucoup d'auteurs, ayant abandonné ces plantules dans des vases clos, ont constaté la production d'hydrogène sulfuré, dont ils ont attribué la formation à un phénomène de nutrition de ces algues. M. Winogradsky s'élève contre cette dernière manière de voir : la production de l'hydrogène sulfuré est un fait sans doute incontestable, mais la mise en liberté de ce gaz n'est pas due à ces algues, appelées autrefois sulfuraires, mais aux bactéries de la putréfaction. On peut, d'ailleurs, en tuant les *Beggiatoa*, démontrer que le soufre qu'elles contiennent disparaît peu à peu et que le dégagement du gaz sulfhydrique n'est pas suspendu. Nous partageons entièrement l'avis de M. Winogradsky, car le fait nouveau de l'hydrogénation directe du soufre libre par les bactéries que nous avons établi il y a une dizaine d'années, vient corroborer et expliquer le phénomène de la disparition du soufre chez les algues sulfuraires mortes ou anesthésiées.

Quant aux corpuscules de soufre qui se forment dans l'intérieur des *Beggiatoa*, l'auteur attribue leur production à l'oxydation de l'hydrogène sulfuré des eaux minérales; cet hydrogène vient-il à manquer, ce soufre disparaît; les eaux en sont-elles chargées artificiellement, ces corpuscules réapparaissent. Pour M. Winogradsky, la fonction physiologique dominante des sulfobactéries réside dans un pouvoir oxydant énergique qui s'exerce doublement, si l'on peut s'exprimer ainsi, d'abord à l'égard de l'hydrogène sulfuré, auquel elles enlèvent le soufre, et plus tard à l'égard de ce soufre lui-même, qu'elles transforment en acide sulfurique, ce que démontrent d'ailleurs les réactions microchimiques.

L'action réductrice des sulfobactéries sur les sulfates terreux, admise par beaucoup d'auteurs, ne nous a jamais paru vraisemblable. Nous n'avons jamais constaté, pour notre part, que les microbes de la putréfaction les plus actifs et les plus sulfhydrogènes aient pu toucher au soufre oxydé des sulfites ou des sulfates,

Si quelques auteurs ont prétendu le contraire, c'est, nous pensons, pour avoir méconnu plusieurs causes d'illusion, ou s'être placés dans des conditions expérimentales défectueuses. M. Winogradsky nous semble donc avoir gain de cause sur ses contradicteurs.

Dr M.

Dr C. Fraenkel. — **De l'action de l'acide carbonique sur la vie des microorganismes** (*Zeitschrift für Hygiene*, V, 2, p. 332).

Dans ses recherches sur la présence des microorganismes dans le sol (*Zeitschrift für Hygiene*, II, p. 521), M. Fraenkel avait constaté que dans les échantillons de terre, pris dans les couches profondes du sol, il survient une abondante multiplication des germes, quand on les laisse quelque temps à l'air. Ainsi, pour citer un exemple, le nombre des germes qui était au moment de la prise de l'échantillon de 12 dans 1/50 de centimètre cube, se montait, 24 heures plus tard, déjà à 40.800. M. Fraenkel avait pensé que la pauvreté en germes des couches profondes tenait peut-être au manque d'oxygène ou à la quantité souvent considérable d'acide carbonique que l'on y trouve. C'est en vue de vérifier ce dernier point que M. Fraenkel a entrepris une série de recherches sur l'influence exercée par l'acide carbonique sur la vie des bactéries. La question a été peu étudiée jusqu'ici, car, à part les observations de MM. Pasteur et Joubert, qui ont vu la bactéridie charbonneuse périr dans l'acide carbonique, de M. Buchner, qui a constaté que le bacille du choléra de Koch refusait d'y croître, de M. Schottelius, sur l'action qu'il exerce sur le *B. prodigiosus*, et quelques expériences de M. Liborius, on ne trouve pas grand chose sur ce point dans la littérature.

Cette lacune est utilement comblée par le travail très-complet de M. Fraenkel, car il a soumis 40 espèces différentes de bactéries à l'action de ce gaz. Les bactéries à étudier étaient ensemencées dans de la gélatine liquéfiée que l'on roulait en plaques sur la paroi intérieure du tube à essai, d'après la méthode d'Esmarch. Les tampons de ouate étaient remplacés par un bouchon de caoutchouc bien enduit de parafine pour obtenir une fermeture hermétique, et percé de deux trous pour laisser passer deux tubes coudés en verre ; il réunissait deux à deux les tubes par des tuyaux de caoutchouc et faisait passer l'acide carbonique dans le système pendant quelques jours, généralement une à deux semaines. Les tubes étaient alors comparés à des tubes de contrôle. Les tubes dans lesquels rien n'avait crû étaient encore observés pendant

quelque temps, pour constater si les germes ensemencés avaient été tués ou seulement arrêtés dans leur croissance.

Avec ce procédé, on obtient une expulsion à peu près complète de l'air, car ce qui peut en rester dans la mince couche de gélatine est bien peu de chose. M. Fraenkel ne s'en est cependant pas contenté, et, pour obtenir une expulsion encore plus parfaite, il a fait passer le courant d'acide carbonique à travers la gélatin liquéfiée en prolongeant l'un des tubes coudés jusqu'au fond du ballon de culture; il fermait ensuite les deux tubes coudés à la lampe, et répartissait alors seulement la gélatine en plaque sur les parois du tube. D'autres fois aussi, la gélatine était remplacée par du bouillon, ce qui permettait d'étendre les recherches aux bactéries exigeant la température de l'étuve, et aussi de constater si l'influence nocive de l'acide carbonique pourrait être contre-balancée par l'action d'une température plus favorable.

Voici maintenant la liste des bactéries avec lesquelles l'auteur a expérimenté : *M. prodigiosus, Bac. indicus,* Sarcine jaune, Sarcine orange, *Bac. subtilis, Bac. rhiziformis, Bac. megaterium,* Bac. rouge et Bac. violet de l'eau, *Bac. fluorescens, Bac. phosphorescens, Proteus vulgaris, Bact. zopfii,* Bac. du lait bleu, *Bac. acid. lactici* (Hueppe), *Bac. butyricus* (Hueppe), Levûre noire, Levûre rose, Levûre de bière, Bact. charbonneuse, Bac. du choléra, Bac. de Finkler et de Deneke, Bact. de Friedlaender (pneumonie), *M. tetragenus,* Bac. typhique, Bac. d'Emmerich, Bac. de Brieger, *Staph. pyog. aureus* et *albus, Streptoc. pyog., Strept. erysipelatis, Bac. pyocyaneus,* Bac. du choléra des poules, Bac. de la septicémie des lapins, des porcs et des souris, Bac. du rouget, Bac. de l'œdème malin et du charbon symptomatique. Les résultats sont consignés d'une facon détaillée dans de nombreux tableaux et se résument en ceci :

L'acide carbonique est loin d'exercer la même influence sur tous les microorganismes. Un nombre restreint de ceux-ci croît presque aussi bien dans ce gaz que dans l'air ordinaire; ce sont les bacilles du typhus, d'Emmerich, de Brieger, de l'acide lactique (Hueppe), le Pneumocoque de Friedlaender et la Levûre de bière.

D'autres croissent également dans ce gaz, mais avec des retards plus ou moins considérables, ainsi le *M. prodigiosus,* le *Bac. indicus,* le *Proteus vulgaris,* le *Bac. phosphorescens.*

Quelquefois aussi, les entraves mises à la croissance des bactéries par l'acide carbonique ne sont surmontées qu'à l'aide d'une élévation de température (37° au lieu de la température de la chambre), par exemple le *M. tetragenus,* les bactéries du choléra des poules, de la septicémie des porcs, des lapins et des souris, du

rouget, les *Streptococcus pyogenes* et de l'érysipèle, et les *Staphylococcus aureus* et *albus*.

Au contraire, l'acide carbonique empêche absolument la croissance de tous les autres microorganismes étudiés par M. Fraenkel, c'est-à-dire de la plus grande partie des saprophytes et des microbes pathogènes, et notamment des bacilles du charbon et du choléra. On pourrait penser que le manque d'oxygène y est pour quelque chose; il n'en est rien, car une partie de ces bactéries appartiennent, d'après les recherches de M. Liborius, à la classe des anaérobies facultatifs, et, d'autre part, on voit aussi des espèces absolument anaérobies se refuser à croître dans l'acide carbonique. Celui-ci n'est donc pas un gaz indifférent, et il devenait intéressant d'étudier jusqu'à quel point il peut anéantir les microorganismes. En opérant avec les espèces sensibles à son action, M. Fraenkel constata une diminution notable des germes dans les cultures de bouillon soumises d'une façon continue à l'action de ce gaz. Au bout du douzième jour, il ne restait plus que quelques individus (de 24 à 160), qui avaient probablement été plus résistants (les spores sont ici hors de cause, car les cultures n'en contenaient point). Encouragé par ces résultats, l'auteur chercha aussi à déterminer si ces qualités antiseptiques de l'acide carbonique pourraient être utilisées pour combattre la putréfaction; celle-ci, toutefois, ne fut que retardée, mais jamais empêchée.

Telle est l'action de l'acide carbonique pur sur les microbes. Mélangé, par contre, à de l'air atmosphérique dans la proportion de 75 °/₀, son influence s'atténue déjà presque entièrement, car les bacilles du charbon et du choléra y croissent parfaitement. Or, comme le sol n'en contient guère plus de 11 °/₀, on ne peut donc plus attribuer à ce facteur, comme le remarque M. Fraenkel lui-même, la pauvreté en germes des couches profondes. Mais bien que ce fait curieux reste encore à expliquer, le travail de M. Fraenkel n'en a pas moins enrichi la microbiologie d'une grande quantité de faits nouveaux et intéressants.

E. F.

Dr J. Soyka et Dr A. Bandler. — **Du développement des bactéries pathogènes soumises à l'influence de leurs produits de culture** (*Fortschrite der Medicin*, 1888, nº 20, p. 769).

Ce sujet a déjà été traité par M. Soyka dans une conférence faite en 1885, au sein de la réunion des naturalistes allemands. La publication de ses expériences fut retardée par diverses circonstances, et depuis, d'autres auteurs, Garré, Sirotinin, Pavone de

même que nous, ont abordé le même problème. Ces récentes publications ont engagé MM. Soyka et Bandler à faire connaître les résultats qu'ils avaient obtenus alors, pensant qu'il serait utile de les comparer avec ceux obtenus par les expérimentateurs que nous venons de nommer. La méthode suivie par eux était la suivante : Des tubes de gélatine étaient inoculés avec des cultures pures de diverses espèces bactériennes, puis laissés à l'étuve à 37° pour quelques semaines. Au bout de ce temps, les cultures étaient retirées de l'étuve et, quand la gélatine s'était refroidie et avait repris consistance, on y ensemençait d'autres bactéries. Cette méthode n'est guère applicable, on le voit, que quand on a employé pour la première culture une espèce bactérienne ne liquéfiant pas la gélatine. Cependant, même quand elle a été liquéfiée par les bactéries, celles-ci tombant généralement au fond du tube, on peut se servir pour les cultures subséquentes, après l'avoir décantée avec soin, de la couche supérieure de la gélatine redevenue limpide. La méthode de MM. Soyka et Bandler nous paraît, à vrai dire, peu recommandable, car elle complique le problème de l'action des produits de culture en y ajoutant des questions complexes de concurrence vitale entre bactéries ; néamoins, on ne lira pas sans intérêt les résultats obtenus par les auteurs. Les vieilles cultures employées à de secondes cultures, ainsi qu'il a été dit, étaient les suivantes : Cultures du bac. de l'acide lactique, de la septicémie des lapins et des souris, des *Staph. pyog. albus et flavus,* du microbe du choléra des poules, du bac. pneumonique de Friedlaender, du typhus, du streptococcus, de l'érysipèle, du bac. de la diphtérie des pigeons, du *Microc. tetragenus*, du lait bleu, du *Bac. prodigiosus*, du spirille du choléra, du rouget des porcs, des bâtonnets d'Emmerich, des spir. de Deneke et du *Bac. subtilis*. La liste, on le voit, est assez complète. Malheureusement, au lieu de nous indiquer dans quelles cultures un organisme donné croissait mal ou pas du tout, les auteurs se bornent à citer un certain nombre de cultures bactériennes qui, dans leurs expériences, ont permis la culture subséquente d'autres bactéries ; ainsi, par exemple, ils nous disent que les spirilles du choléra croissent dans les cultures épuisées de *Microc. tetragenus*, du bac. pneumonique, du rouget et de la diphtérie des pigeons, mais ils ne nous disent pas, ce qui eût été beaucoup plus intéressant, dans quelles cultures ils ne se développent qu'avec peine ou pas du tout.

E. F.

Dr S. Kitasato. — **De la façon dont les bactéries du choléra se comportent dans le lait** (*Zeitschrift für Hygiene*, v, 3, p. 490).

Koch avait déjà constaté que les bactéries du choléra croissent très bien dans le lait, et l'on trouve dans la littérature quelques cas dans lesquels ce liquide semble avoir servi de véhicule à l'infection. M. Kitasato a donc pensé qu'il ne serait pas sans intérêt de rechercher plus soigneusement les conditions d'existence du bacille cholérique dans le lait. Voici les résultats de ces expériences.

Dans le lait *non stérilisé* mais frais, tenu à 36°, les bacilles cholériques augmentent beaucoup pendant les 3 à 4 premières heures, ainsi que le prouvent les cultures sur plaques que l'auteur faisait d'heure en heure avec le lait infecté ; passé cette limite, le lait devient acide et les bacilles du choléra diminuent d'heure en heure jusqu'à ce qu'il devienne impossible de les retrouver. Les bactéries du lait, par contre, augmentent alors. Les cultures, tenues à 22-25°, deviennent moins vite acides et les bacilles du choléra s'y maintiennent vivants pendant 1 jour à 1 jour et demi, après avoir aussi considérablement augmenté de nombre pendant les premières heures. A 8 et 15° les cultures ne s'acidifient qu'après un ou deux jours, et les bactéries du choléra n'y périssent qu'au bout de 2 et 3 jours. Il n'y a toutefois, à cette température, point d'augmentation pendant la période initiale. Comme dans la pratique, le lait n'est généralement consommé que quelques heures après avoir été trait, les bactéries du choléra fortuitement introduites dans celui-ci, ont donc l'occasion, si la température est élevée, de se multiplier.

Dans le *lait stérilisé* les bacilles disparaissent également à mesure que la réaction du lait, alcaline au début, devient acide. Dans les cultures tenues à 36°, on ne trouve plus de bacilles vivants après deux semaines ; dans celles tenues à 22° et 25°, ils étaient encore vivants après trois semaines.

Enfin, M. Kitasato a constaté que les bacilles cholériques sont toujours tués dans le lait quand on le chauffe pendant cinq minutes à 96-100°. Il suffit donc, en cas d'épidémie, de le cuire pour le débarrasser des germes cholériques qui pourraient y avoir été introduits.

E. F.

L'Éditeur-Gérant :
Georges CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

NOTE

SUR UNE NOUVELLE FORME DE COLPODE
(*COLPODA HENNEGUYI*)
ET SUR UN FLAGELLÉ PÉLAGIQUE

PAR

FABRE-DOMERGUE

Au mois de janvier de cette année, M. le Dr Henneguy, préparateur du cours d'embryogénie comparée du Collège de France, voulut bien attirer mon attention sur une forme intéressante d'infusoire qu'à première vue l'on était tenté de prendre pour de gros individus de *Colpoda cucullus*. Un examen plus complet ne tarda pourtant pas à nous convaincre que nous avions affaire à une espèce du même genre, mais, à coup sûr, différente spécifiquement. Je dédie cette forme au Dr Henneguy, en témoignage de ma profonde estime et de ma sincère amitiè.

Le *Colpoda Henneguyi* a été rencontré dans une vieille macération de feuilles et de détritus desséchés, ramassés dans le jardin du Collège de France et déposés dans un cristallisoir avec de l'eau. Il abondait à la surface du liquide sous la zooglée de bactéries dont il faisait principalement sa nourriture. Ses mouvements paresseux, sa grande taille en rendraient l'étude relativement facile si son protoplasme n'était obscurci par de fines et nombreuse granulations.

De même que son congénère, le *Colpoda Henneguyi* a la forme générale d'un rein, mais tandis que chez celui-là la portion antérieure du corps est plus atténuée que la portion antérieure chez le *C. Henneguyi*, au contraire, c'est celle-ci qui est la plus grosse. De plus, les contours généraux diffèrent sensiblement, et l'on trouve chez l'espèce qui nous occupe, du moins chez tous les individus que j'ai étudiés, une netteté de contours, une constance de forme qui lui donnent un aspect tout à fait particulier.

La taille des individus normaux varie entre $0^{mm}031$ et $0^{mm}065$.

Le corps assez fortement comprimé (*fig. 3*) nous offre à considérer une face ventrale aplatie, une face dorsale convexe, une face latérale gauche presque rectiligne et une face latérale gauche fortement convexe. La face dorsale porte un profond sillon qui, prenant naissance à peu près au niveau de la bouche, s'avance transversalement en s'accentuant et vient se terminer le long de la face latérale droite, de sorte que, vu de profil, le corps a l'air coupé par le milieu. La face ventrale, à la partie moyenne de l'individu et contre son bord latéral gauche, présente une dépression semi-circulaire coupée brusquement en avant, atténuée en arrière, et au fond de laquelle est la bouche. La face latérale gauche fortement convexe en avant s'échancre profondément et brusquement au niveau de la dépression buccale, forme ensuite un renflement au-dessous de de l'échancrure et reprend sa convexité. La face latérale droite nous offre aussi une échancrure due à la terminaison du sillon dorsal vers son tiers inférieur.

Au fond de la dépression buccale s'ouvre, sous forme d'une large fente arrondie en haut et pointue vers le bas, la bouche à laquelle fait suite un œsophage beaucoup plus haut que large. Je n'ai pu me rendre compte de la nature des appendices qui garnissent ses parois. Comme chez tous les infusoires à tourbillon et herbivores, les aliments tombent dans des vésicules alimentaires dont la formation se succède assez rapidement et qui sont entraînés dans un lent mouvement de cyclose ; celle-ci s'effectue de droite à gauche comme chez le *Colpoda cucullus*.

Le protoplasma est jaunâtre et rempli de très fines gra-

nulations. L'ectoplasma, à peu près invisible sur le vivant, se met bien en évidence par la fixation à l'acide osmique et apparaît alors comme une couche claire, densement striée, aspect dû à la présence de travées très fines de hyaloplasma séparées par du paraplasma. Sur l'ectoplasma est appliquée une très mince cuticule portant les stries d'implantation des cils. Ces stries sont très serrées, très rapprochées les unes des autres, beaucoup plus que chez le *Colpoda cucullus*. Leurs intervalles ne forment point, comme chez celui-ci, les côtes proéminentes dont Maupas s'est servi pour distinguer les deux espèces, *C. cucullus* et *Steinii*.

La vésicule contractile logée contre la face dorsale et près de la face latérale droite présente environ cinq contractions par minute, à la température de 15° c. Elle est entourée d'une zone ectoplasmique granuleuse très visible et absolument identique à celle qui revêt le noyau.

Celui-ci, sphérique, clair et transparent n'apparaît sur le vivant que comme une grande tache claire logée dans la portion moyenne du corps près de la face latérale droite. Il est entouré d'une couche ectoplasmique à grandes mailles qui, à première vue, produit l'impression d'un réticulum chromatique dans l'intérieur même de la substance nucléaire. En examinant attentivement les préparations fixées j'ai pu cependant me convaincre que cet aspect était dû au refoulement de l'ectoplasme par le noyau qui se trouve, en quelque sorte, entouré de toutes les granulations qu'il déplace.

Le grand nombre de granulations qui obscurcit le corps de cet organisme ne m'a point permis de décider si le noyau était accompagné d'un nucléole.

L'anus est placé à la partie inférieure du corps, mais je n'ai pu en déterminer exactement la situation.

Le *Colpoda Henneguyi* forme dans la culture et sur le porte-objet même de gros kystes de division et des kystes de conservation. Les premiers possèdent une membrane d'enveloppe très mince, facilement déformable. L'individu qui les forme s'y divise en deux, puis en quatre ; jamais je n'ai observé de division en huit individus. Lorsque la formation des kystes a lieu sous la lamelle et sous l'influence

d'une légère compression on suit fort bien la division du noyau qui apparaît alors nettement entouré d'une zone granuleuse dense et bien limitée. Après fixation et coloration par le vert de méthyle cette couche granuleuse disparaît et le noyau apparaît comme une boule claire homogène, uniformément colorée.

Les kystes de conservation, plus petits, plus arrondis que les précédents, possèdent une membrane d'enveloppe épaisse et résistante, lisse extérieurement.

Le diamètre longitudinal des kystes de division est de $0^{mm}060$ celui des kystes de conservation varie entre $0^{mm}020$ et $0^{mm}040$.

PRONOCTILUCA N. G. PELAGICA N. SP.

Pendant l'été de 1888, dans les produits des pêches pélagiques effectuées quotidiennement au laboratoire de Concarnau, j'ai souvent rencontré un petit infusoire flagellé qui attirait l'attention par sa forme et certains détails de son organisation.

Long de $0^{m}030$ environ, il présente l'aspect d'un fuseau terminé à une de ses extrémités par un tentacule, moitié aussi long que le corps et mobile à la manière de celui d'une noctiluque. Son corps, parfaitement transparent et incolore, présente toujours un peu au dessous de sa partie moyenne un gros globule réfringent coloré en jaune paille, parfois en jaune d'or, et rappelant tout à fait le globule huileux de certains œufs pélagiques de poissons. Lorsqu'on traite un de ces individus par le mélange de vert de méthyle et d'acide osmique, ce globule prend immédiatement une forte couleur bleue en laissant voir au début une ou plusieurs vacuoles dans sa masse. Ces détails disparaissent bientôt, par suite de l'intensité croissante de la coloration qui rend bientôt le globule presque noir.

A l'extrémité antérieure du corps, nous trouvons à considérer plusieurs organes intéressants. Une fosse prébuccale, placée à la base du tentacule et échancrant légèrement la partie antérieure du fuseau. Je n'ai point vu de



pharynx ni de bouche distincts. Sur un des bords de cette fosse, sont insérés côte à côte deux flagellum très longs, extrêmement flexibles, qui se meuvent en tous sens et servent à la locomotion. Enfin, près de la fosse prébuccale se trouve encore une vésicule claire, qui est peut-être la vésicule contractile, mais, bien que sa présence soit constante, je n'ai jamais assisté à sa systole.

Le tentacule inséré directement au pôle antérieur du fuseau est clair, transparent, avec quelques légères granulations. On peut voir sur le vivant qu'il se continue dans la masse du corps, sous forme d'une traînée granuleuse, qui descend en s'atténuant dans l'axe même du fuseau jusqu'au niveau de la vésicule claire.

Les individus tués par l'acide osmique, et colorés par le carmin boracique, laissent voir un petit noyau accolé à la paroi du corps, et formé d'une masse homogène avec de petites granulations fines et assez espacées.

Par la forme de sa bouche et de ses deux flagellums, le *Pronoctiluca pelagica* se rapproche des *Chilomonas*; mais, d'autre part, son tentacule, absolument semblable à celui d'une Noctiluque, moins la striation, en fait je crois une forme de passage entre les Fagellés et les Cysto-Flagellés.

EXPLICATION DES FIGURES

PLANCHE III

Les *fig. 1-8* sont grossies 500 fois.
Les *fig. 9* et *10* sont grossies 1000 fois.

Fig. 1. — *Colpoda Henneguyi* vu par la face dorsale.
Fig. 2. — Le même vu par la face ventrale.
Fig. 3. — Le même vu par la face latérale gauche.
Fig. 4-7. — Montrant les diverses phases de la division d'un kyste de multiplication du Colpoda.
Fig. 8. — Kyste de conservation du Colpoda.
Fig. 9. — *Pronoctiluca pelagica.*
Fig. 10. — Le même fixé par l'acide osmique pour mettre en évidence le noyau.

Dans toutes les figures, *n* représente le noyau, *vc* la vésicule contractile *b* la bouche.

COLORATION DES COUPES

Pour la recherche des bactéries dans les tissus animaux (1)

PAR

Le Dr H. KUHNE (de Wiesbaden)

Si le microscope peut parfois déceler dans les tissus des microbes, même isolés, sans l'aide des matières colorantes, il est absolument nécessaire, dans toute étude sérieuse, de colorer ces microbes de façon qu'ils se distinguent nettement du milieu qui les contient.

Dans ce but, on se sert aujourd'hui, avant tout, des couleurs d'aniline, et il n'en est pas une qui, convenablement employée, n'imprègne les bactéries.

Mais cela ne suffit pas, la principale indication à remplir dans la coloration des microbes étant de donner à ceux-ci une teinte différente de celle du milieu ambiant ; et si, après les premiers essais, les couleurs d'aniline ont été pendant un certain temps abandonnées, comme ne répondant pas au but qu'on se proposait, cela s'explique précisément parce qu'on n'avait pas encore appris à différencier, par une technique spéciale, les divers éléments de la coupe.

La solution de ce problème est, suivant les cas, très facile ou très difficile, si l'on se propose, non pas seulement de montrer nettement tous les microbes contenus dans un tissu, mais aussi de déterminer exactement leurs rapports avec les éléments histologiques. Cela n'est guère possible que si, par un procédé spécial, on arrive à caractériser les divers éléments des tissus au point qu'ils se distinguent nettement les uns des autres.

Abstraction faite des méthodes qui se proposent comme

---

(1) Traduit de l'allemand par M. Martin Herman.

seul but de colorer les bactéries tout en laissant le tissu incolore, on s'est jusqu'ici, d'une façon peut-être trop exclusive, attaché à obtenir une bonne coloration des noyaux.

S'il est vrai que cette méthode a de grands avantages, chaque fois qu'il s'agit de mettre en évidence la structure, il ne faut pas non plus méconnaître ses inconvénients, dont le principal est que les schistomycètes sont cachés par des noyaux trop fortement teintés. D'autre part, étant admis qu'il est de toute importance, en bactériologie, de différencier les noyaux des autres parties du tissu, j'ai cherché à y parvenir par l'emploi d'un procédé qui fait ressortir les noyaux en teinte claire sur le fond plus sombre du protoplasme. La différenciation n'en souffre nullement et, en outre, on évite de masquer les microbes par des noyaux trop colorés.

Pour la démonstration des bactéries contenues dans les vaisseaux, ce procédé n'est pas de grande utilité, mais il acquiert une grande valeur lorsqu'il s'agit de mettre en évidence les schistomycètes qui résident dans les cellules elles-mêmes ou dans des amas de cellules, par exemple dans les nodosités tuberculeuses. Un examen comparatif le montrera aisément : une préparation à noyaux clairs laissera voir beaucoup plus de microbes qu'une préparation du même tissu dont les noyaux sont fortement colorés.

Nous n'examinerons pas ici à fond les processus chimico-physiques qui déterminent la coloration. Qu'il n'y ait pas qu'un simple dépôt mécanique de particules colorantes, il est facile de s'en rendre compte par les modifications quelquefois considérables que subissent les matières colorantes dans certains tissus. Je ne mentionnerai, à ce propos, que la teinte violette donnée aux cellules granuleuses par le bleu de méthylène (1).

D'ailleurs, nos connaissances en chimie physiologique,

---

(1) Un exemple frappant est fourni par ce fait, signalé récemment par Babès, que le bleu de méthylène colore en rouge certains éléments observés à l'intérieur de divers microbes, dont le corps se colore en bleu. (*Zeitschr. f. Hygiene,* t. V, p. 173). Traduct.

aussi bien du reste que dans la chimie si complexe des multiples dérivés colorants de l'aniline, ne sont pas suffisantes pour permettre, dès aujourd'hui, des hypothèses assurant des résultats véritablement pratiques. On ne doit pas pour cela refuser à ces hypothèses toute valeur scientifique, mais ici, je me suis contenté d'envisager surtout les phénomènes physiques, dont la compréhension est plus facile, et je crois que cela m'a suffi pour arriver à certains résultats.

Partant de l'idée que les matières colorantes se déposent comme telles à l'intérieur du tissu et qu'elles se fixent différemment dans les diverses parties suivant une résistance variable de celles-ci à l'égard des agents d'extraction, j'ai donné la préférence aux méthodes qui cherchent à obtenir la différenciation tout en respectant, autant que possible, la texture du tissu. Jusqu'ici, dans l'hypothèse que certaines bactéries, notamment le bacille tuberculeux, s'imprègnent difficilement de matière colorante, on jugeait nécessaire, pour obtenir un résultat convenable, de prolonger la durée de la coloration (24 heures et même plus) ou bien de chauffer le bain colorant. Mais il ne faut pas oublier que par ce procédé, l'imprégnation du tissu étant trop intense, la différenciation est très difficile à exécuter; dès lors, la forte coloration que l'on voulait donner aux schistomycètes peut devenir complètement inefficace, outre l'inconvénient direct qu'offre cette méthode d'altérer le tissu.

Dans mon opinion, il n'est pas démontré qu'il soit particulièrement difficile de colorer ces microbes à l'intérieur des tissus : la facilité qu'on a de colorer des schistomycètes, étalés en couches desséchées sur couvre-objet, plaide énergiquement contre cette croyance; et si l'on ne réussit pas, même après une durée relativement courte de coloration, à obtenir des résultats positifs, cela tient simplement et uniquement à ce que le procédé de différenciation employé est défectueux.

Ce qui prouve la justesse de cette assertion c'est qu'on peut colorer, dans des solutions colorantes diluées, des coupes contenant des schistomycètes de n'importe quelle espèce, à condition que, pour cela, on en fasse des prépa-

rations sèches sans employer aucun moyen de différenciation.

Ces considérations montrent donc qu'il est avantageux de ne pas surcolorer le tissu et de rechercher des agents de différenciation qui épargnent, autant que possible, la texture; ces agents, je les ai trouvés dans ce même groupe des couleurs d'aniline. D'abord, je croyais que les couleurs d'aniline acides pourraient seules réaliser le but, mais plus tard j'ai découvert que certaines couleurs basiques jouissaient des mêmes propriétés.

Un autre inconvénient des méthodes employées jusqu'ici réside dans l'emploi de l'alcool pour la déshydratation des coupes après la différenciation : les propriétés décolorantes de l'alcool exercent, en réalité, une influence très fâcheuse dans certaines circonstances. J'ai cherché d'abord à atténuer cet inconvénient en chargeant l'alcool de la même substance colorante que celle employée à colorer la coupe. De cette façon, pendant les courants de diffusion, une partie au moins de la couleur enlevée par l'alcool est restituée à la coupe. Plus tard, quand Weigert eut recommandé l'huile d'aniline comme moyen de déshydratation, je ne me suis plus servi de l'alcool, coloré ou non, que pour enlever la faible quantité d'eau qui reste à la surface des coupes, la déshydratation se faisant surtout par l'huile d'aniline.

Les solutions alcooliques des couleurs d'aniline acides ou basiques, employées comme agents d'extraction, n'ont répondu à mon attente que pour les bactéries qui retiennent fortement la matière colorante, tandis que ces mêmes solutions décolorent les autres bactéries aussi rapidement que le tissu qui les contient, et ne peuvent être employées dans la recherche de ces bactéries. Pour ces cas, j'ai eu recours à des solutions de couleurs d'aniline, basiques ou acides, dans l'essence de clous de girofle, essence que j'ai dernièrement remplacée avec avantage par l'huile d'aniline.

Depuis ces derniers temps, je ne me sers dans tous les cas que de cette dernière substance, colorée ou non, suivant qu'elle sert de moyen d'extraction, de déshydratation ou de coloration double.

CULTURE DU BACILLE DE LA TUBERCULOSE

SUR LA POMME DE TERRE (1)

Tours, 23 avril 1889.

Monsieur le Directeur,

Vous avez publié dans les *Annales de Micrographie* (numéro du 15 octobre 1888), une note extraite d'un mémoire inséré par le Dr A.-D. Pawlowsky, dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, et relatif à la culture du bacille de la tuberculose sur la pomme de terre.

Je vous demande la permission de faire connaître le procédé très succinct que j'ai suivi et au moyen duquel j'ai obtenu également sur la pomme de terre une culture de ce bacille.

Les pommes de terre, stérilisées à 100° au moyen de l'appareil du Dr Chantemesse, sont maintenues dans l'étuve à une température oscillant entre 38 et 40 degrés pendant 10 jours. Les précautions voulues sont prises pour maintenir les cultures dans les conditions d'humidité qui paraissent, comme le fait d'ailleurs observer M. le Dr Pawlowsky, indispensables au développement du bacille de Koch.

Les cultures entreprises en dernier lieu avaient pour but de rechercher le bacille dans l'urine d'un enfant qu'on supposait atteint de tuberculose rénale. Elles ont, du reste, été faites comparativement sur la gélose nutritive glycérinée de MM. Nocard et Roux.

Les résultats obtenus par l'un et l'autre procédé ont été aussi concluants.

Je reconnais que le procédé publié par M. le Dr Paw-

(1) Recherches faites au Laboratoire de Batériologie de l'Hôpital de Tours.

lowsky donne, dans le délai indiqué, des cultures offrant tous les caractères spéciaux. Je reconnais également que les bouillons et les gelées additionnés de glycérine sont les milieux favorables au développement du bacille de la tuberculose; mais j'estime que le procédé *rapide* que j'ai adopté peut être de quelque utilité dans un grand nombre de cas et surtout lorsque l'expérimentateur ne dispose pas de tous les appareils de stérilisation.

C'est à ce titre que je vous demande de vouloir bien lui accorder la publicité de vos Annales.

Agréez, Monsieur le Directeur, l'assurance de mes sentiments les plus distingués.

D. Barnsby.

BIOGÉNÈSE DE L'HYDROGÈNE SULFURÉ

(Suite et fin)

Par le Dr P. MIQUEL

III.

Remplaçons maintenant dans les tubes scellés I et II le caoutchouc et le soufre par de l'albumine d'œuf desséchée pendant plusieurs jours à 110°. Je me suis servi dans ces expériences d'une albumine d'œuf commerciale soluble, qui, sous l'influence de cette température prolongée, perd sa translucidité et prend l'aspect du cuir quand on l'immerge dans l'eau ; versons, dis-je, sur cette albumine de l'eau ordinaire stérilisée, chargée du ferment sulfhydrique que l'on renouvellera, comme dans les expériences précédentes, toutes les fois qu'on aura pratiqué un dosage.

Albumine desséchée à 110° (Hydrogène sulfuré par litre)

	I	II
Après 3 jours	12cc 3	8cc 0
Après 2 »	9 4	11 6
Après 3 »	10 9	12 7
Après 5 »	17 8	25 3
Après 12 »	38 1	47 5

Le ferment a ici un rôle beaucoup moins simple ; il devient destructeur de l'albumine, et produit simultanément une véritable putréfaction et un dégagement d'hydrogène sulfuré.

Dans les expériences longtemps prolongées, on rencontre dans la liqueur du sulfhydrate d'ammoniaque facile à mettre en évidence au moyen de quelques gouttes d'une solution de nitro-prussiate de soude, qui produisent immédiatement dans la liqueur une teinte bleue violacée, caractéristique des sulfures alcalins. Le dosage de l'hydro-

gène sulfuré par la solution titrée d'iode ne donne plus, dans ces conditions, des résultats précis, l'iode pouvant entrer en combinaison avec le liquide putréfié ; on doit, dans ce cas, doser l'hydrogène sulfuré à l'état de sulfure de plomb.

Le bacille sulfhydrogène, mis au contact de l'albumine, produit donc du gaz acide sulfhydrique, mais en quantité infiniment moindre qu'au contact direct du soufre mélangé à de la liqueur de Cohn étendue. Cela ne nous saurait surprendre, car, en dehors du phénomène secondaire de l'hydrogénation du soufre répandu dans cette matière plastique, il incombe tout d'abord au microbe le rôle de la détruire; dans le cas considéré, cette destruction est rendue encore plus difficile par l'action préalable de la chaleur sur l'albumine d'œuf. En un mot, l'organisme bacillaire doit mettre en liberté le soufre de l'albumine avant de pouvoir efficacement l'hydrogéner; aussi, devant un travail biologique aussi considérable, la production de l'hydrogène sulfuré devient beaucoup moins rapide.

Loin de moi, cependant, la pensée d'affirmer que le soufre doive nécessairement être ramené à l'état de métalloïde, pour pouvoir être efficacement hydrogéné. Peut-être, en se détruisant, la molécule albumine donne-t-elle la combinaison H^2S ; cela ne paraît guère probable, mais au fond nous l'ignorons, et aucun fait ne nous permet de rejeter absolument cette hypothèse.

En servant au bacille une albumine moins coriace, on lui facilite ce travail de décomposition, et on voit, comme je l'ai dit en 1879, la quantité d'hydrogène sulfuré, dégagé dans le même temps, s'élever de 30 à 70^{cc}. Il suffit, pour obtenir ce résultat, de remplacer l'albumine desséché à 110° par de l'albumine d'œuf fraîche coagulée à 105°. Les tubes III et IV chargés de cette dernière substance, d'eau ordinaire et de ferment, ont donné les résultats suivants :

Albumine coagulée à 105° (Hydrogène sulfuré par litre)

	III	IV
Après 3 jours	32^{cc} 5	28^{cc} 6
Après 2 »	39 4	41 5
Après 5 »	69 6	71 3
Après 10 »	80 3	89 7

Là se sont arrêtées mes expériences. Elles suffisent, à mon sens, pour démontrer qu'il existe des microorganismes capables d'hydrogéner puissamment le soufre libre et celui qui entre dans la constitution des substances albuminoïdes. Sans préjuger du mode d'action de ces microbes, je crois que l'hydrogène sulfuré, dont la présence se constate si fréquemment dans les liquides putréfiés, est dû le plus souvent à l'action de l'hydrogène naissant dégagé par le microbe sur le soufre mis en liberté au moment de la destruction de la molécule complexe de l'albumine. Les expériences qui précèdent, comme celles que je viens de rapporter dans ce troisième paragraphe, me semblent justifier cette hypothèse, à savoir que la fermentation sulfhydrique doit être considérée comme une biogénèse ultérieure à la destruction des substances albuminoïdes.

IV

Le mot de fermentation, appliqué à l'hydrogénation du soufre par les bactéries, a soulevé de la part de M. Duclaux quelques critiques que je ne saurai passer sous silence.

« Tous ces phénomènes sont intéressants, ajoute M. Duclaux (1), après avoir rappelé mes recherches sur l'hydrogénation du soufre par les bactéries, a-t-on le droit de les rassembler sous le nom de fermentation sulfhydrique, comme le fait M. Miquel? Nous ne le pensons pas. Si on ne veut pas introduire dans les termes une confusion inextricable, il faut réserver le mot de fermentation aux phénomènes dans lesquels il y a nutrition d'un microbe aux dépens d'un aliment déterminé, dont partie entre comme élément dans les tissus de l'être, partie est éliminée avec la qualité et dans les mesures qu'exigent les besoins vitaux. Telle est la fermentation du sucre au contact de la levûre de bière, telle est aussi, avec des variations dépendant de la nature du microbe, la fermentation

---

(1) Duclaux. — *Chimie biologique*, page 718, 1883.

acétique de l'alcool; telles sont encore toutes les fermentations que nous connaissons bien.

» On désigne, il est vrai, les deux premières sous le nom de fermentation alcoolique et de fermentation acétique, du nom de leurs produits, et il semble qu'on ait le droit, par suite, d'appeler celle que nous venons d'étudier du nom de fermentation sulfhydrique. Mais c'est le mot fermentation qui est le terme générique, c'est lui qui donne à l'action son caractère fondamental, et c'est lui qu'il faut se demander si l'on a le droit de l'appliquer.

» Or, dans l'espèce, il n'en est pas ainsi. M. Miquel avoue lui-même que l'hydrogénation du soufre est une action tout à fait distincte du phénomène de nutrition pouvant exister ou manquer, suivant la présence ou l'absence du soufre dans la liqueur. Ceci montre, non seulement qu'il ne faut pas appeler fermentation le phénomène où elle se produit, mais qu'il est bien plus inexact d'appeler du nom de fermentation sulfhydrique, qu'il ne le serait d'appeler fermentation carbonique, la fermentation alcoolique ordinaire, car, ici au moins, l'acide carbonique provient du phénomène de nutrition, tandis que l'acide sulfhydrique n'a pas ce rôle dans les phénomènes que nous venons d'étudier. »

Les phrases si claires que l'on vient de lire ne peuvent laisser aucun doute sur la signification que M. Duclaux attache au terme *fermentation*. Que ce savant me permette tout d'abord de lui affirmer que je ne tiens en aucune façon à l'expression que j'ai employée pour distinguer la fabrication de l'hydrogène sulfuré par les microbes, de la préparation de l'hydrogène sulfuré par les moyens chimiques.

Pourtant, en ce qui concerne le dégagement de ce gaz par les matières albuminoïdes, il y a réellement *nutrition du microbe aux dépens d'un aliment déterminé,* nutrition en l'absence de laquelle il n'y a pas production de gaz sulfhydrique. D'ailleurs, si en dehors des substances albuminoïdes il y a production d'hydrogène sulfuré au contact du soufre, cette hydrogénation est intimement liée au fait de la nutrition du microbe. Pas de microbe, pas d'hydrogène sulfuré; pas de levûre, pas d'alcool. Mais personne ne

pourrait prétendre qu'en l'absence du soufre ou du sucre, le microbe et la levûre dussent cesser d'être considérés comme ferments. Les fermentations ne seraient donc que des cas particuliers et contingents de nutrition; je me rallierais volontiers à cette opinion. Mais comme je n'accepte pas la définition de M. Duclaux, en tant qu'elle cherche à créer des catégories de phénomènes dus à des actes vitaux encore très obscurs, je n'en discuterai pas plus longtemps le fond et la forme.

Je ferai cependant ressortir que dans la fermentation alcoolique prise pour type, on ignore encore si la levûre doit nécessairement digérer tout le sucre que l'on voit se transformer sous son action en alcool et acide carbonique. Lors d'une savante discussion qui s'éleva à cet égard au sein de l'Institut entre MM. Pasteur et Berthelot, la conclusion évidente pour tous fut que cette question ne pouvait être résolue que par de nouvelles recherches. Aujourd'hui, on ignore donc toujours si la fermentation d'une partie du sucre ne s'accomplit pas à côté du phénomène de nutrition de la levûre, sous l'action de ferments solubles ou autres, dont on peut rapprocher l'action de celle de l'hydrogène naissant produit par certaines bactéries.

Quant à ce qui concerne la fermentation ammoniacale, que j'ai le mieux étudiée, je peux affirmer que l'hydratation de l'urée, appelée fermentation de l'urée par M. Duclaux, s'accomplit, pour ainsi dire, sans être à peine touchée par les nombreux microbes qui la déterminent, et sans que cette substance leur serve de nourriture, au moins d'une façon appréciable.

En passant ainsi en revue la plupart des fermentations bien connues, on arrive à cette remarque peu encourageante, que l'obscurité la plus profonde règne sur ces phénomènes microbiologiques, et qu'il est actuellement imprudent de les définir avec le secours des notions très vagues que nous possédons sur le mode d'action des cellules vivantes.

Si j'osais introduire dans la science un autre terme applicable aux phénomènes chimiques dus à la nutrition des cellules, je proposerai de remplacer provisoirement le mot *fermentation* par celui de *biogénèse*. On dirait ainsi ;

biogénèse de l'alcool, de l'ammoniaque, de l'acide sulfhydrique, etc...., sans se préoccuper de définir prématurément une classe de phénomènes placés sous la dépendance d'un travail biochimique qui nous échappe jusqu'à ce jour. Je crois qu'on pourrait abandonner sans regret le mot fermentation, jadis employé pour désigner le dégagement tumultueux du gaz acide carbonique des cuves de vendanges, ou l'échauffement de la paille ou de foin insuffisamment secs.

V

Quand le milieu où s'effectue l'hydrogénation du soufre est alcalin ou le devient par suite de phénomènes biologiques s'accomplissant parallèlement (nous venons de voir que la destruction de l'albumine fournit de l'ammoniaque sous l'influence du bacille sulfhydrogène), l'hydrogène sulfuré se combine à l'alcali, et il se forme des sulfures. Dans la biogénèse de l'hydrogène sulfuré au sein des liqueurs minérales contenant du soufre, la présence d'un excès d'hydrate de chaux donne naissance à du sulfure de calcium, en même temps qu'il se forme du carbonate calcique. Mais la synthèse du sulfure d'ammonium est surtout saisissante, en ce sens qu'elle peut s'accomplir sans l'addition préalable d'aucun alcali et sous l'action unique des bactéries.

Voici comment je réalisai cette synthèse en 1879. (Voir *Annuaire de Monsouris* pour l'an 1880, page 509). Dans un grand flacon de 4 litres de capacité, plein de rubans de papier enduits de soufre et d'eau faiblement chargée d'urine, j'introduisis, après stérilisation au bain d'air, le *Bacillus sulfhydrogenus* et le *Bacillus ureœ*. Je dois dire entre parenthèse que ce dernier organisme, dont M. Flügge attribue la découverte à Leube, avait fait, de ma part, vers cette époque, l'objet d'une monographie détaillée qu'on trouve résumée ou reproduite dans une dizaine d'ouvrages français parus de 1879 à 1883, alors que Leube, auquel ce travail paraissait inconnu, a signalé pour la première fois ce bacille sous le même nom dans les archives de Virchow

pour l'année 1885. Ce fait établi, je reprends la description de mon expérience. Au bout de 72 heures, la liqueur du flacon présentait une odeur très forte de sulfhydrate d'ammoniaque, dont la quantité totale répandue dans les 4 litres d'eau fut trouvée égale à 2 gr. 44.

Une seconde expérience donna au bout de 3 jours 2 gr. 65 de sulfhydrate d'ammoniaque.

Une troisième, d'une durée de 50 heures, accusa seulement 2 gr. 16.

L'urine n'est pas toujours nécessaire à la production du sulfhydrate d'ammoniaque, mais il est indispensable de fournir au *Bacillus ureæ* une substance nutritive autre que la liqueur de Cohn, dont se contente volontiers le *Bacillus sulfhydrogenus*.

Un flacon de 4 litres reçut la liqueur de Cohn à 1/5, 10 gr. d'urée pure artificielle, une feuille de gélatine et une forte couche de soufre; le tout fut stérilisé, et, après refroidissement de la masse liquide, les *Bacillus ureæ* et *sulfhydrogenus* furent semés dans le flacon. Au bout de 3 jours, le liquide à peine louche, mais incolore, accusait 2 gr. 9 de sulfhydrate d'ammonium (HS, AzH^4). Traversé par un courant d'air, le liquide du flacon vira presque à vue d'œil au jaune foncé; il est donc facile de réaliser dans les laboratoires le phénomène de production de sulfhydrate d'ammoniaque qui s'observe si fréquemment dans les fosses d'aisances.

J'ajouterai, en terminant ce paragraphe, que les sulfures alcalins exercent sur le *Bacillus sulfhydrogenus* une action toxique moindre que l'acide sulfhydrique, ce qui explique pourquoi, dans le même volume de liquide, il est possible d'obtenir une quantité double de gaz combiné à un alcali.

VI

Comme j'ai pu m'en convaincre aisément, les organismes doués de la faculté de produire de l'hydrogène sulfuré sont très nombreux. La pluplart d'entre eux se présentent sous l'aspect de bacilles plus ou moins allongés pouvant

varier depuis la forme de bactériums à articles à peu près globulaires, jusqu'à celle des bactéries filamenteuses à articles longs de 10 à 20μ. On arrivera aisément, par une étude méthodique, à les classer suivant leur puissance d'action. Plus je vais dans les recherches microbiologiques, et plus je m'aperçois que la forme et les dimensions micrométriques et beaucoup d'autres caractères physiques sont d'un faible secours pour distinguer entre elles ces diverses espèces.

La plupart de ces ferments appartiennent à la classe des êtres anaérobies facultatifs; dans le cas qui nous occupe, il serait d'ailleurs difficile de comprendre qu'une bactérie susceptible de donner naissance à de l'hydrogène sulfuré, ne put pas se passer d'oxygène atmosphérique; ce dernier gaz ne pouvant se trouver en présence de l'acide sulfhydrique, sans se combiner à lui et donner du soufre, de l'eau, et peut être de l'acide sulfurique.

Plusieurs de ces bacilles peuvent croître dans les liqueurs minérales, dans la composition desquelles entre le tartrate d'ammoniaque; d'autres, au contraire, ne s'y développent jamais, tandis qu'on les voit généralement prospérer dans les bouillons de bœuf, de peptone, dans la gélatine, l'urine, où ils donnent rapidement naissance à une quantité plus ou moins abondante d'hydrogène sulfuré. Le *Bacillus sulfhydrogenus* se présente en articles courts de 1 à 2μ de longueur sur 0,6 à 0,8 μ de largeur; ces dimensions varient du reste avec la richesse des milieux nutritifs où on le cultive. D'apparence grêle dans les solutions minérales très aqueuses, il se montre plus gros dans la gélatine, le bouillon et l'urine; inoculé sur les *substrata* demi-solides, il y produit des clous blancs très fournis. Maintenu pendant quelques heures à la température de 50-55°, il meurt et devient incapable de provoquer le moindre dégagement d'hydrogène sulfuré. Il existe, au contraire, d'autres bacilles sulfhydrogènes qui résistent pendant le même temps aux températures humides de 60,70 et même 80°. J'engage donc les expérimentateurs à tenir compte de cette remarque, qui leur facilitera la séparation les uns des autres des microbes producteurs du gaz sulfhydrique.

Pour se procurer ces organismes, et notamment le

Bacillus sulfhydrogenus, on peut opérer de la façon suivante : un flacon d'eau d'égout récemment puisée est additionné d'un peu de soufre concassé, puis le vase à peu près plein et bien bouché est placé à l'étuve à 30°; au bout de 24 heures, on perçoit généralement l'odeur franche de l'hydrogène sulfuré, tout à fait différente de l'odeur putride dégagée par de l'eau d'égout abandonnée sans soufre dans les mêmes conditions. Chose curieuse, l'eau d'égout est devenue maintenant plus claire, beaucoup de fermentations concurrentes ont été arrêtées par le dégagement de l'hydrogène sulfuré qui, en 48 heures, est devenu très abondant. La biogénèse du gaz sulfhydrique étant bien déclarée, on substitue dans le flacon à l'eau d'égout, en conservant la couche de soufre, soit de la liqueur de Cohn stérilisée et étendue, soit de l'eau chargée d'urine. Un nouveau dégagement d'hydrogène sulfuré se produit alors beaucoup plus intense que le précédent, et l'on choisit cet instant pour procéder à l'isolement de l'espèce sulfhydrogène.

Une goutte de ce dernier liquide est diluée dans un litre d'eau stérilisée, puis une goutte de cette dilution est mélangée à de la gélatine peptonisée additionnée d'une solution stérile de chlorure de plomb; la quantité de ce sel métallique ne doit pas dépasser 1 pour 1000 de la masse de la gélatine; déjà à cette dose cette substance est manifestement antiseptique, les colonies y poussent mal; cependant, au bout de quelques jours, le *substratum* ainsi ensemencé montre de nombreuses sphérules parmi lesquelles dominent les sphérules brun-chocolat. Ces colonies, fortement colorées, sont toutes formées par des organismes sulfhydrogènes et n'ont acquis cette teinte foncée que grâce à la présence du plomb, qui s'est précipité autour d'elles à l'état de sulfure.

Le ferment sulfhydrique, qui se décèle ainsi lui-même, fait l'objet de nouvelles séparations, et on arrive aisément à l'obtenir à l'état de pureté. En variant dans plusieurs expériences successives l'action de la chaleur sur l'eau d'égout, source naturelle de ces ferments, on arrive à supprimer le *Bacillus sulfhydrogenus* qui est de tous le plus répandu, et on isole de nouveaux bacilles doués

de la faculté biologique qui nous occupe. Je regrette que des études spéciales, dirigées sur d'autres fermentations non moins intéressantes, ne m'aient pas laissé le loisir de poursuivre l'histoire de plusieurs de ces microbes, mais ce travail, je ne tarderai pas à l'aborder prochainement, et je profiterai de cette occasion pour décrire une biogénèse peu connue, celle des hydrogènes phosphorés. Comme le soufre, le phosphore blanc et rouge peuvent être hydrogénés directement par plusieurs bactéries, et fournir au contact des liquides nutritifs des dégagements gazeux d'une odeur aliacée et d'une fétidité repoussante; ces mêmes bactéries peuvent également extraire les hydrogènes phosphorés de l'albumine, et surtout de l'urine, en l'absence du phosphore à l'état de corps simple.

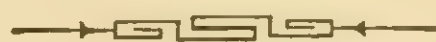
LES APPAREILS DE MICROGRAPHIE

A L'EXPOSITION UNIVERSELLE DE 1889

Les *Annales de Micrographie* publieront, à partir du prochain numéro, une série d'articles sur les divers instruments et objets de micrographie exposés dans les magnifiques palais qui s'élèvent au Champ de Mars. Au premier coup-d'œil cette tâche paraît devoir être ingrate, car la plupart de ces instruments se trouvent épars dans les diverses sections et peuvent facilement passer inaperçus à côté des merveilles grandioses que l'Art et l'Industrie ont accumulées dans l'enceinte de l'Exposition Universelle. Les rédacteurs des *Annales* feront cependant leur possible pour éviter les omissions d'une certaine importance et ne négligeront aucune des descriptions qui leur paraîtront devoir être profitables à leurs lecteurs.

Nos premiers articles seront consacrés aux laboratoires de microscopie exposés par les diverses Institutions scientifiques qui ont eu le bon esprit de présenter méthodiquement les appareils qui servent à leurs investigations journalières. Nous passerons ensuite en revue : les microscopes divers, leurs accessoires, les instruments de laboratoire usités en micrographie, les préparations microscopiques, etc.

Cette étude nous semble devoir constituer aujourd'hui un document de la plus grande actualité, et, plus tard, un document utile à consulter pour se rendre un compte exact des progrès rapides de la science que les *Annales de Micrographie* ont pour but de vulgariser.



REVUES ET ANALYSES[1]

BALBIANI. — **Sur trois entophytes nouveaux du tube digestif des Myriapodes.** — *Journal de l'Anatomie et de la Physiologie*, XXVe vol., n° 1, janvier-février 1889, pages 5-45, pl. I et II.

Les organismes végétaux parasites du tube digestif des Myriapodes ne nous étaient connus jusqu'ici que par les travaux de Leidy, Robin et Plateau. Et encore, les observations de ce dernier auteur n'ont-elles été faites qu'on passant, lors de ses recherches sur la digestion des Myriapodes.

Dans le travail que nous allons analyser ici, M. Balbiani décrit trois nouvelles espèces d'Entophytes rencontrées dans le tube digestif du *Crytops*. La première, qui peut être rapportée à celle signalée par Plateau, est désignée sous le nom d'*Omphalocystis Plateaui*, la seconde *Mononema moniliforme* et la troisième *Rhabdomyces Lobjoyi* sont entièrement nouvelles.

Omphalocystis Plateaui. — Cet organisme habite la portion antérieure ou œsophage du *Crytops punctatus*. Examiné à l'œil nu ou à la loupe, à travers les parois de l'intestin préalablement extrait de l'animal, il apparaît sous forme de petites taches blanches arrondies qui peuveut atteindre 1 mill. de large. Chacune de ces taches est formée d'une petite touffe de filaments ramifiés, provenant tous d'une cellule basilaire adhérente aux parois de l'œsophage. La cellule basilaire représente la première cellule primitive qui a donné naissance au végétal; d'abord simple et semblable à toutes les autres cellules qu'elle supporte, elle ne tarde pas à se différencier pour constituer à la plante son point d'attache. Sa forme est alors celle d'un rein ou d'un haricot dont le hile est tourné vers la surface de l'intestin. Dans ce hile pénètre une sorte de pointe, un repli cuticulaire par lequel adhère la cellule. Si l'on détache celle-ci par une traction un peu forte, et

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

que l'on examine la surface de ce repli, on constate que la cuticule n'est nullement altérée à son sommet et qu'elle n'y présente aucune solution de continuité.

De la cellule basilaire, d'abord unique, partent en différents points des bourgeons qui se différencient et deviennent ovoïdes en demeurant adhérent à la cellule par un mince pédoncule. Ces bourgeons se divisent de nouveau, il en résulte bientôt un filament qui se dichotomise par le bourgeonnement latéral de quelques-uns des éléments qui le composent. Le siège principal de la division cellulaire de chaque filament n'est ni dans la cellule basilaire ni à l'extrémité libre du filament, mais au niveau des cellules les plus rapprochés de la cellule basilaire. A mesure que croît le filament, les cellules de son extrémité subissent certaines modifications, mûrissent, pour se détacher bientôt et tomber dans la cavité digestive de leur hôte. A ce moment, elles ont 0mm 06 — 0,04 de long, sont étranglés à leur milieu, et contiennent un grand nombre de granulations graisseuses, séparées au niveau de l'étranglement par un espace clair. Cet aspect n'est point dû à un cloisonnement de la cellule, mais à une simple disposition particulière des globules graisseux qu'elle contient.

Toutes les cellules de la plante contiennent un noyau que l'on peut mettre en évidence par l'action prolongée du picro-carmin.

Le parasite peut se multiplier dans l'intérieur même de son hôte par la fixation, sur la cuticule et le bourgeonnement, d'une cellule libre, qui devient par le fait cellule basilaire. Mais il peut aussi être expulsé au dehors sous forme de cellules mûres. On trouve en effet celles-ci dans les portions postérieures du tube digestif et dans les fèces des individus tenus en captivité. Les cultures tentées par l'auteur sur des fèces de *Crytops* délayées dans l'eau, ne lui ont point permis de suivre l'évolution complète de l'*Omphalocystis*. Quant à sa situation dans le règne végétal, M. Balbiani le range, sous bénéfice d'inventaire, dans le groupe des champignons.

Mononema moniliforme.— Cette forme ressemble étroitement à des filaments isolés d'*Omphalocystis* et n'en diffère que par l'absence de cellules basilaires et de dichotomisation. L'auteur l'a trouvée, soit en compagnie de l'espèce précédente, soit seule dans l'œsophage du *Crytops hortensis.* Chaque filament se compose d'un certain nombre d'articles de plus en plus gros ; les cellules les plus âgées sont à l'extrémité libre, les plus jeunes à plus petite extrémité qui adhère à l'intestin par la cellule terminale non modifiée.

Rhabdomyces Lobjoyi. — Appartient à la famille des Blastomycètes ou Levûres. Le *Rhabdomyces* a la forme de petits bâtonnets allongés, d'une longueur variant entre 0mm 018 et 0mm 030 sur 0mm 003

à 0mm 004. Ces bâtonnets ne vivent point dans la cavité du tube intestinal, mais dans l'épaisseur même de ses parois, ainsi qu'on peut s'en assurer par des coupes transversales. Chaque bâtonnet se compose d'une mince membrane d'enveloppe avec un protoplasma clair et quelques granulations. La multiplication de ces éléments a lieu par formation de bourgeons à l'un des pôles, et jamais les bâtonnets n'émigrent dans les divers tissus de l'hôte.

M. Balbiani pense que l'espèce se propage de la manière suivante : Les *crytops* tués par le parasite seraient dévorés par leurs congénères, et une fois dans le tube digestif les parasites pénétreraient dans ses parois pour s'y multiplier. Les cultures faites en dehors de l'habitat normal du *Rabdomyces*, dans l'eau pure, l'urine bouillie ou non bouillie, les jus de fruits, etc., n'ont généralement donné que des résultats négatifs, sauf une fois où il a été observé la formation d'un corps brillant réfringent que M. Balbiani croit être une endospore.

Indépendamment des trois organismes qui font l'objet de cet intéressant travail, l'auteur signale dans le tube digestif des *crytops* une grégarine et une coccidie.

F. D.

GRUBER. — **Etudes biologiques sur les protozoaires.** (*Biologischen Centralblatt.* Bd. IX. N° 1, mars 1889. P. 14-23.

Cette note est tout à la fois une analyse et une réfutation du dernier travail de Maupas, paru dans les *Archives de Zoologie* et dont nous avons donné une analyse critique dans le n° 5 des *Annales de Micrographie*. Dans cette analyse, nous nous étions surtout attaché à combattre la technique de l'expérimentateur. Gruber, au contraire, attaque le raisonnement même de Maupas sans rechercher si ses résultats sont justes ou non. Selon lui, l'immortalité des infusoires n'aurait subi aucune atteinte par le fait des découvertes du savant d'Alger qui aurait simplement démontré que le rajeunissement par la conjugaison est un fait nécessaire à la conservation de l'espèce.

F. D.

Dr MAX VERWORN. — **L'excitation polaire des protistes sous l'influence des courants électriques.** (*Archiv. f. d. ges. Phys.* Bd. XLV, 1889. Pages 1-36. Pl. I et II).

L'auteur a étudié l'action des courants électriques sur différents héliozoaires, rhizopodes et infusoires. Parmi les premiers se range

l'*Actinosphœrium eichornii;* pour les rhizopodes, il s'est adressé au *Polystanella crispa* et au *Pelomyxa palustris;* enfin, parmi les ciliés, le *Paramœcium aurelia* a été surtout mis à contribution.

Lorsque l'on soumet un *Actinosphœrium* à l'action du courant électrique l'on voit survenir divers phénomènes qui démontrent une excitation manifeste. Les pseudopodes se rétractent suivant l'axe perpendiculaire au sens du courant, au contraire, ils s'allongent dans le sens de celui-ci et en même temps se couvrent de nodosités protoplasmiques et prennent un aspect variqueux; les pseudopodes tendent en même temps à se rétracter et l'animal difflue par un de ses pôles.

Le *Pelomyxa palustris* montre également la même tendance à diffluer selon la direction du courant auquel il est soumis, et le *Polystomella* oriente ses pseudopodes suivant cette direction.

Ces faits démontrent évidemment une excitation localisée aux pôles positifs et négatifs de l'animal soumis à l'expérience.

Mais le point le plus intéressant du travail du Dr Verworn est celui relatif au galvanotropisme des infusoires ciliés. En examinant dans une goutte d'eau, traversée par un courant galvanique, des *Paramœcium aurelia*, l'auteur remarqua que les organismes s'orientaient suivant des directions déterminées. Dans une cuve rectangulaire, par exemple, l'on voit toutes les paramœcies se diriger vers le côté négatif et s'orienter de façon que leur grand axe corresponde au sens du courant. En rapprochant les électrodes du milieu de la goutte, les individus s'orientent autour des deux pôles, mais un peu plus vers le pôle négatif; ainsi disposés, ils rappellent assez les asters d'une figure de division cellulaire. Enfin, plus rapprochés encore, les électrodes déterminent la réunion des paramœcies derrière le pôle positif. Les mêmes faits ont été observés sur l'*Halteria grandinella,* les *Stentor*, le *Colpoda cucullus* et le *Coleps hirtus.* Les flagellés n'ont donné que des résultats négatifs.

F. D.

H. Dubief et I. Bruhl. — **Sur la Désinfection par l'acide sulfureux** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CVIII, page 824).

Ces deux auteurs ont cherché si l'acide sulfureux à l'état de gaz a une action certaine sur les germes en général. Les analyses auxquelles ils se sont livrés les ont amenés à conclure : que l'acide sulfureux a une action destructive totale sur les cultures; que le nombre des germes contenus dans les atmosphères confinées est toujours plus faible après qu'avant la sulfuration; que la sulfura-

tion est plus meurtrière pour les bactéries que pour les moisissures; et qu'enfin l'acide sulfureux gazeux privé d'humidité peut agir sur les germes atmosphériques, même à l'état sec, et les détruire partiellement. Les expériences intéressantes de MM. Dubief et I. Bruhl concordent avec ce que l'on connaît des qualités désinfectantes de l'acide sulfureux; ce gaz détruit, en effet, un assez grand nombre de microbes, mais il ne saurait être considéré comme un microbicide radical. J'ai, pour ma part, pu maintenir pendant 20 jours des poussières atmosphériques sèches dans une atmosphère d'acide sulfureux pur, sans parvenir à détruire les spores de quelques bacilles.

Dr M.

Dr Doyen. — **Les Bactéries de l'urine** (*Journal des connaissances médicales*, n° 14, avril 1889).

Le Dr Doyen désigne sous ce nom les schizomycètes dont il a pu constater la présence dans les urines pathologiques, prélevées avant tout cathétérisme chez les malades atteints de cystite et de pyélonéphrite. Ces schizomycètes isolés, au nombre de 14, ont été surtout caractérisés par l'aspect que présente leur culture sur la gélatine et l'agar-agar. M. Doyen décrit : les *Bacillus urinæ claviformis, fertilis, major, aerobius, striatus, mollis, tenuis, pellucidus, diffluens, liquefaciens,* les *Micrococcus urinæ albus, major, albus olearius, flavus olearius;* la plupart de ces organismes déterminent une septicémie mortelle chez les cobayes. L'étude de ces divers microbes aurait gagné à être faite avec moins de précipitation, car l'on sait aujourd'hui combien peuvent être trompeurs les caractères tirés uniquement de l'aspect des colonies nées sur les *substrata* solides. Mais nous ne pouvons laisser passer sans la relever cette affirmation de l'auteur; à savoir que : « La fermentation de l'urée est une fermentation banale qui se produit sous l'influence de n'importe quelle bactérie susceptible de se cultiver dans l'urine. » J'ai démontré il y a longtemps qu'il existe plusieurs schizophytes et plusieurs mucédinées capables d'hydrater l'urée, mais il est inexact que toutes les bactéries qui croissent dans l'urine soient capables de déterminer cette action biochimique. Peu d'entre elles, au contraire, jouissent de cette faculté; d'ailleurs, de même que les levûres alcooliques, les ferments de l'urée peuvent faire l'objet de monographies précises, et il est regrettable que le Dr Doyen, dans son travail sur les bactéries de l'urine, ne nous ait pas dit quelles sont celles d'entre elles qui se soit montrées capables de déterminer la fermentation de ce liquide animal.

Dr M.

Nocard et Moulé. — **Les viandes à odeur de beurre rance** (*Recueil de Médecine vétérinaire,* série 7, t. VI, n° 4, page 67).

Parmi les viandes expédiées aux halles de Paris, MM. Nocard et Moulé en ont parfois rencontré qui exhalent une odeur intense voisine de celle du *beurre rance*. A l'examen microscopique, le sang et la sérosité exprimés de ces viandes saisies ont montré un bacille formé de filaments grêles, arrondis, effilés à leurs extrémités, paraissant munis de spores. Ce bacille, inoffensif pour les lapins, tue les cobayes au bout de 36 à 48 heures ; à l'autopsie des animaux succombés des suites de ces inoculations, les lésions constatées ont été celles du charbon symptomatique ou du vibrion septique, leur chair exhalait l'odeur du *beurre rance*. MM. Nocard et Moulé se sont demandé si cette odeur n'est pas due aux microorganismes du charbon symptomatique, ou de la septicémie. Sans se prononcer encore définitivement sur ce point ; ces savants inclinent à penser que l'odeur de beurre rance pourrait être déterminée par un ferment vulgaire analogue au ferment butyrique, qui trouverait un milieu favorable à son action dans le tissu musculaire déjà modifié par les microbes du charbon symptomatique et de la septicémie. A côté de toute la gamme des odeurs plus ou moins désagréables et aromatiques que peuvent présenter les conserves altérées par les bactéries de l'air, du sol et des eaux, il nous a été donné de rencontrer assez souvent l'odeur très prononcée et très persistante du beurre rance, notamment dans les cultures effectuées dans l'urine humaine. La dernière hypothèse de MM. Nocard et Moulé trouverait peut-être un appui dans cette remarque.

D[r] M.

Ch. Bouchard. — **Influence qu'exerce sur la maladie charbonneuse l'inoculation du bacille pyocyanique** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. CVIII, p. 713).

Charrin et L. Guignard. — **Action du bacille pyocyanique sur la bactéridie charbonneuse** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. CVIII, p. 764).

Dans plusieurs séries d'inoculations pratiquées d'abord avec la bactéridie charbonneuse et, quelques heures plus tard, avec le bacille de Gessard, M. le professeur Bouchard a constaté que, sur 26 lapins ainsi traités, il y a eu 6 morts par le charbon, 8 morts sans charbon, et 12 guérisons, soit environ 46 pour 100 ; tandis que

20 lapins témoins, inoculés seulement avec le *Bacillus anthracis*, sont tous morts par le charbon. M. Bouchard a observé, en outre, que les animaux guéris n'avaient pas acquis l'immunité, car, inoculés plus tard avec du sang charbonneux, sans adjonction du bacille pyocyanique, ils ont tous succombé au charbon.

MM. Charrin et Guignard ont cherché à pénétrer la cause de ce résultat curieux. Ils ont suivi en dehors de l'être vivant les modifications que peut subir le *Bacillus anthracis* au sein des cultures envahies par le bacille pyocyanique. Ils ont pu constater au bout de 8 jours, avec une atténuation de virulence de la bactéridie charbonneuse, des modifications morphologiques parallèles; mais il résulte de leurs premiers essais que les causes du fait signalé par M. Bouchard sont encore obscures, mais tiennent vraisemblablement à l'atténuation de la bactéridie au contact des produits fabriqués par le bacille du pus bleu; à l'épuisement du milieu par ce dernier microbe, peut-être aussi au phagocytisme qui profiterait de la lutte engagée entre ces deux schizomycètes pour remporter une victoire devenue facile.

Dr M.

Schütz. — **Le Streptococcus de la gourme du Cheval** (*Rundschau d. Schneidemuhl*).

Sand et Jensen. — **L'Étiologie de la gourme** (*Archiv für Thier-heil Kunde*, vol. XIV, 3e liv.).

I. — Schütz, dans le « *Lehrbuch der speciellen Pathologie und Therapie der Hausthiere, de Friedberger et Frœhner,* » avait déjà indiqué, en 1887, les propriétés du streptococcus de la gourme. Dans l'article que nous analysons en ce moment, il communique le résultat de nouvelles expériences.

Schütz, avec les couleurs d'aniline et surtout avec la solution aqueuse de violet de gentiane, a pu mettre en évidence, dans le pus des glandes gourmeuses, un streptococcus spécial, qui se colore avec intensité.

L'ensemencement sur la gélatine de viande peptonisée, sur l'agar-agar, ne donne aucun résultat. Dans l'infusion de viande, ces streptococcus forment au fond du vase un amas floconneux et, sur le sérum du sang de mouton solidifié, des gouttelettes transparentes qui, plus tard, deviennent confluentes. Cultivées sur du sérum en plaques, ils forment des dépôts secs, des élevûres de couleur chatoyante. Dans les gouttes déposées au fond des tubes contenant du sérum et de l'agar, on remarque de petits flocons grisâtres. Si on étale sur la lamelle une parcelle de cette culture,

on voit, après coloration, autour des cocci, une auréole claire qui se continue sans interruption dans toute l'étendue de la chaînette.

Ces parasites sont pathogènes pour les chevaux et les souris et produisent, aux points d'inoculation, un processus purulent, phlegmoneux, qui, en général, s'étend assez loin; et, dans ces abcès, on retrouve toujours les streptococcus. Le pus et ses microorganismes pénètrent dans les voies lymphatiques, qui les conduisent dans les ganglions, où ils déterminent, tantôt une hyperplasie celluleuse, tantôt de la suppuration.

Ces cocci n'ont aucune action sur les lapins, les cobayes et les pigeons.

On a quelquefois trouvé ces parasites dans le sang. Le foie est très souvent le siège d'abcès métastatiques qui, d'après Schütz, sont le résultat de la lenteur de la circulation du sang dans le foie. On trouve alors les cocci sous forme de filaments dans les capillaires qu'ils traversent pour gagner les cellules du foie.

Schütz a réussi à produire des abcès, aux points d'inoculation, chez des chevaux inoculés avec des cultures pures provenant des souris, abcès renfermant toujours les mêmes streptococcus. Avec une culture pure, obtenue dans une infusion de viande de bœuf et injectée par les cavités nasales d'un cheval, il a également pu provoquer la gourme, et toujours il retrouvait dans le jetage, dans le pus des glandes, les mêmes cocci en chaînettes.

De tous ces faits, Schütz en conclut que ces microorganismes sont les agents spécifiques de la gourme. Il dit aussi qu'il est possible de différencier les parasites de la gourme des organismes de la morve, ou des autres affections purulentes identiques, car, jusqu'à présent, on ne connaît aucun organisme pathogène qui aït les mêmes propriété que le streptococcus dont nous venons de parler.

II. — Sand et Jensen auraient, paraît-il, la priorité sur la découverte de l'agent spécifique de la gourme, car ils auraient fait, bien avant Schütz, des expériences qu'ils ont communiquées en septembre 1887, dans une réunion vétérinaire tenue à Copenhague.

Comme Schütz, Sand et Jensen ont trouvé, dans le pus des glandes, des cocci en chapelet, et ont réussi à contaminer des chevaux et des souris, des lapins, avec le pus et les cultures. D'après ces auteurs, les souris domestiques seraient très sensibles à l'action des streptococcus de la gourme, car elles meurent toutes des suites de l'inoculation, tandis que les souris des champs ne meurent pas des suites de l'infection. Les cobayes paraissent réfractaires.

Contrairement à Schütz, Sand et Jensen auraient réussi à cultiver le streptococcus dans du bouillon, sur le sérum du sang et

même sur la gélatine de viande peptonisée, l'agar-agar. Dans des tubes contenant de la gélatine de viande peptonisée et soumis à une température modérée, l'accroissement est lent, très lent même; mais, à un température plus élevée, la végétation est identique à celle du streptococcus pyogenes.

Les auteurs précités ont aussi fait des essais de transmission au cheval, essais qui ont donné d'importants résultats.

Ils donnent le nom de *Streptoccus equi* au streptococcus particulier qu'ils ont trouvé et isolé dans le pus et jetage des chevaux atteints de gourme. D'après eux, ce streptococcus ne serait pas en état d'infecter la muqueuse intacte; mais, dans les affections catarrhales, il se produit une espèce d'irritation mécanique de la muqueuse et l'infection a lieu. Les injections intra-veineuses paraissent ne déterminer aucune infection générale, mais seulement une violente phlébite, qui donne l'immunité vis-à-vis l'infection expérimentale par le pituitaire. Le streptococcus de la gourme se différencie de tous les streptococcus connus, par ses propriétés pathogènes et par sa manière d'être dans les cultures.

L. M.

Prof. Dr C. Flüggf. — **Etudes sur l'atténuation des bactéries virulentes et sur l'immunité acquise** (*Zeitschrift für Hygiene*, IV, 2, p. 208).

Nos lecteurs connaissent déjà, par les résumés que nous en avons donnés, la série de travaux entrepris sous la direction de M. le professeur Flügge, par quelques-uns de ses élèves en vue de jeter quelque lumière sur le problème si obscur de l'immunité acquise. Dans quelques pages d'introduction, M. Flügge expose l'état actuel de la question en y joignant d'intéressantes considérations sur le résultat de ses recherches. Il commence par délimiter nettement leur portée. Elles n'ont trait, — excepté les recherches du Dr Sirotinin, sur les produits de culture des bactéries — qu'au charbon et, en partie du moins, au rouget du porc et au choléra des poules. Il n'est, en effet, pas probable, d'après ce que nous savons des différences qui existent entre les diverses espèces de bactéries, que l'explication de l'atténuation et de l'immunité acquise soit la même pour tous les agents infectieux; d'autre part, l'étude de la question de l'immunité dans son ensemble, exigerait une série de recherches dépassant les forces d'un expérimentateur; une limitation était donc imposée par les circonstances.

De quels phénomènes intimes l'atténuation s'accompagne-t-elle? Telle est la première question étudiée par M. Flügge. D'après ce

savant, il y a probablement deux manières de provoquer l'atténuation. La première consiste à cultiver le microbe virulent pendant longtemps, et à travers de nombreuses générations, soit dans un milieu nutritif artificiel, soit dans une espèce animale peu sensible à son action. L'autre méthode consiste à le soumettre à l'action nocive de divers agents, tels que la chaleur, les poisons chimiques, etc.

On s'explique l'atténuation obtenue par le premier procédé en admettant que l'espèce virulente, adaptée dans l'origine à l'organisme vivant, s'accommode peu à peu à une modification du milieu et à une vie de saprophyte ; les cultures, dans le milieu artificiel, deviennent de plus en plus abondantes et faciles, si bien qu'elles perdent la faculté de prendre pied dans l'organisme vivant; on aurait ainsi la variété atténuée. Une formation si rapide de variétés distinctes, grâce à la seule influence des circonstances extérieures, serait cependant peu conforme à ce que nous savons de la formation des variétés dans les espèces plus élevées des règnes végétal et animal; aussi, M. Flügge serait-il tenté de faire intervenir ici un phénomène de sélection naturelle. On sait que les bactéries ont fréquemment une tendance à varier; il se pourrait donc que, dans une première culture virulente, il se trouvât quelques exemplaires mieux faits pour la vie de saprophyte que pour celle du parasite; dans l'organisme animal, ils périssent; dans le milieu artificiel, par contre, ils font souche et prennent le pas sur les exemplaires virulents, et, au bout de quelques générations, on obtient une culture pure de cette variété « atténuée ». L'atténuation, par le passage dans un animal peu sensible à l'action de l'agent infectieux, pourrait s'expliquer d'une façon analogue, le corps de l'animal faisant office de milieu de culture. Mais que l'atténuation ait lieu par accommodation ou par sélection, on remarque, dans ce cas, que l'espèce atténuée croît mieux et plus rapidement dans le milieu nutritif dans lequel elle s'est formée, que ne le faisait la première culture faite avec les organismes vivant encore à l'état de parasites. C'est ainsi que se forment des variétés atténuées des bacilles de la morve (Lœffler), de la lèpre (Bordoni), des méningococcus (Bordoni), des micrococcus de l'érysipèle, etc., dont la croissance successivement plus abondante dans les milieux artificiels a été mise en évidence.

D'autres bactéries, au contraire, ne montrent aucune disposition à former des variétés; ainsi, les bacilles du charbon, du rouget, du choléra des poules, de la tuberculose et d'autres, peuvent être cultivés dans des milieux artificiels sans que leur virulence ou l'énergie de leur croissance diminue. Leur atténuation s'obtient

alors par le second procédé, l'application temporaire d'agents nocifs (chauffage à 43° pour le charbon, etc.). Les vaccins ainsi formés ont été généralement considérés comme des variétés ne se distinguant de leurs ancêtres infectieux que par la perte de leur virulence. Cette opinion paraît erronée à M. Flügge, et il lui semble plus probable que l'atténuation est causée dans ce cas par une dégénérescence générale du protoplasme, provoquée par les agents nocifs employés. Les expériences du Dr Smirnow justifient, pense-t-il, cette hypothèse en démontrant que l'énergie de croissance des vaccins du charbon, du rouget et du choléra des poules, ainsi que leur force de résistance à l'égard des désinfectants, est notablement abaissée. Ces expériences, selon M. Flügge, indiqueraient déjà la voie dans laquelle il faut chercher la solution du problème de l'immunité, en permettant de considérer l'infection comme une lutte entre l'organisme et les bactéries, dont l'issue dépend de l'énergie vitale de ces dernières ; lorsqu'elle est affaiblie, l'organisme peut rester vainqueur et puise, dans la lutte, de nouvelles forces contre une attaque future. Ceci conduit M. Flügge à discuter les théories auxquelles on a eu recours jusqu'ici pour expliquer le mécanisme de l'immunité. Quatre hypothèses principales sont ici en présence :

1. Des matières produites par les bactéries elle-mêmes, dont l'accumulation gênerait leur pullulation, restent dans l'organisme après une première invasion et s'opposent à une nouvelle invasion des mêmes bactéries. (*Hypothèse de la rétention*, Chauveau, Wernich).

2. Une première invasion consume les matières nécessaires à la croissance des bactéries dans l'organisme qui devient ainsi impropre à leur servir une seconde fois de terrain nutritif. (*Hypothèse de l'épuisement*, Pasteur, Klebs).

3. A la suite de la première invasion, il se produit dans l'organe principalement atteint des modifications de réaction qui s'opposent à un nouvel établissement des mêmes bactéries. (Buchner, Wolffberg).

4. Certaines cellules de l'organisme acquièrent, par suite de la première invasion, une plus grande aptitude à englober et détruire les microbes envahisseurs. (*Phagocytes* de Metschnikoff.)

Le point de départ de la théorie de la rétention est le fait que l'on voit souvent dans les cultures arrivées à une certaine période de leur croissance tout développement ultérieur s'arrêter par le fait, pense-t-on, de l'accumulation de matières nuisibles secrétées par les bactéries. Mais il résulte des expériences du Dr Sirotinin que

cette action nocive exercée par les bactéries sur elles-mêmes se borne à des modifications dans la réaction du milieu par la production d'acides libres ou de carbonate d'ammoniaque, substances évidemment inaptes à rester en excès dans l'organisme animal. Il faudrait donc admettre que les bactéries forment dans le corps vivant d'autres poisons que dans les cultures, or, rien n'appuie cette hypothèse; les expériences de M. Bitter, démontrant que divers microbes virulents croissent très bien après la mort de l'animal qu'ils ont tué dans ses sucs organiques, lui seraient, au contraire, peu favorables. Récemment, il est vrai, MM. Roux et Chamberland sont parvenus à conférer à des cobayes l'immunité contre la septicémie et contre le charbon symptomatique par l'inoculation de cultures stérilisées. MM. Chantemesse et Vidal ont également obtenu des résultats analogues avec les souris et les cultures typhiques, et l'on a vu dans ces faits la preuve d'une immunité conférée par des substances solubles. Il se pourrait toutefois, selon M. Flügge, qu'il y eut là moins une véritable immunité qu'une simple accoutumance aux poisons chimiques secrétés par les bactéries, ce qui corroborerait peut-être l'observation faite par MM. Roux et Chamberland que les injections ultérieures de cultures stérilisées sont mieux supportées que la première. Nous ne croyons pas que cette objection soit bien solide. En effet, les animaux vaccinés au moyen de cultures stérilisées sont inoculés, dans la suite, avec quelques gouttes seulement d'un liquide virulent, quantité trop faible pour agir par les principes toxiques qu'elle pourrait contenir; pour amener la mort de l'animal, il faut que le virus inoculé se multiplie, or, c'est précisément ce qui n'a pas lieu chez l'animal vacciné. Celui-ci possède donc bien une vraie immunité, consistant en ce que le microbe virulent ne parvient plus à se développer dans son organisme. M. Flügge ajoute, du reste, que tout en formulant cette réserve, il n'entend point nier la possibilité qu'il n'y ait eu dans ces expériences une véritable vaccination. Dans ce cas, toutefois, il lui paraîtrait peu probable que les substances solubles, inoculées à titre de vaccin, agissent directement sur les bactéries comme un poison bactérien; le mécanisme de l'immunité consisterait alors dans une réaction spéciale de l'organisme provoquée par ces substances.

La théorie de l'épuisement, qui semble trouver quelque appui dans les expériences de M. Sirotinin, n'est plus guère admissible, d'après M. Flügge, en présence des résultats des recherches de M. Bitter. Nous avons vu, en effet, que celui-ci a démontré que, dans la vaccination charbonneuse, le vaccin ne se propage que d'une façon minime dans l'organisme vacciné; voir toutefois à

ce sujet notre analyse des travaux de M. Bitter; on ne voit donc guère comment un « épuisement » du terrain pourrait se produire dans ces conditions. En outre, M. Bitter a également démontré que le sang et les bouillons d'animaux vaccinés ou morts à la suite de l'inoculation ne sont pas un plus mauvais milieu nutritif que le sang des animaux non vaccinés ou sains.

La troisième hypothèse, celle de M. Buchner, pourrait être vraie pour quelques maladies infectieuses dont le lieu d'invasion est étroitement limité à un seul organe ou à une muqueuse particulière. Mais elle ne paraît guère applicable aux septicémies aiguës. et ne s'accorderait pas non plus avec les résultats obtenus par M. Bitter, montrant qu'une extension tout à fait locale et minime du vaccin, au point d'inoculation, confère une immunité générale tellement complète de tout l'organisme que même l'injection intraveineuse de spores charboneuses reste sans effet.

Il ne resterait ainsi, selon M. Flügge, plus guère qu'à admettre qu'il se produit à la suite de la vaccination des modifications de réaction au point d'inoculation qui se transmettent à toutes les cellules et tous les organes. La théorie phagocytaire de Metschnikoff, qui a trouvé un accueil si enthousiaste ces dernières années, répondrait à cette idée en cherchant le principe de l'immunité innée ou acquise dans l'activité d'une certaine classe de cellules de l'organisme. Cette théorie est incontestablement préférable à beaucoup d'égards aux hypothèses précédentes, et tous les jours on voit M. Metschnikoff apporter de nouveaux faits à son appui, cependant on ne saurait se cacher, pense M. Flügge, en se fondant sur les expériences de M. Nuttall, qu'il est fort possible que les phagocytes ne soient capables d'englober et de digérer que les bactéries déjà mortes et que celles-ci soient détruites dans les liquides de l'organisme par un mécanisme encore inconnu, mais sans coopération des cellules. Cette action délétaire des sucs de l'organisme sur les bactéries, mise en évidence par M. Nuttall, pourrait bien être un des facteurs qui concourrent à la production de l'immunité et mériterait en tout cas d'être étudiée plus à fond. C'est là un point spécial sur lequel M. Flügge espère pouvoir publier prochainement de nouvelles recherches.

E. F.

Dr P. Kübler. — **Observations sur le** *Micrococcus prodigiosus* **cultivé dans le bouillon acide** (*Centralbl. für Bact. u, Parasitenkunde,* V, 10, p. 333).

M. Wasserzug avait remarqué que le *Micrococcus prodigiosus,* cultivé dans un bouillon acidifié (0,3-0,5 : 1000 d'acide tartrique),

perd sa forme et se présente sous forme de bâtonnets et de longs filaments doués d'un mouvement propre ; en même temps, la fonction chromogène s'affaiblit, et M. Wasserzug en avait conclu que les modifications du milieu nutritif peuvent amener des variations durables de la forme et des fonctions des microorganismes. En reprenant ces expériences, M. Kübler s'est surtout attaché à étudier l'action exercée par le retour du bouillon acide sur un milieu nutritif solide. Il a constaté d'abord qu'au bout de plusieurs cultures dans le bouillon acide (après 6 à 7 cultures le fait est déjà fréquent, après 12-16 cultures il est constant) les cultures sur plaques de gélatine présentent un aspect particulier. Au lieu de liquéfier de suite la gélatine et de la colorer en rouge, le *Micrococcus prodigiosus* produit alors des colonies superficielles blanches qui ne commencent à liquéfier la gélatine qu'après 3 jours ; la coloration rouge est aussi moins intense que d'habitude ; des individus isolés ont, au début, la forme de doubles bâtonnets ; mais, quand la liquéfaction a commencé, on ne voit plus que des bactéries rondes ou elliptiques. En transportant ces cultures sur gélose, on obtient aussi des colonies en forme de gouttelettes incolores au début, qui ne commencent à se colorer qu'après le sixième jour, mais sans arriver jamais au rouge de fuchsine des cultures ordinaires sur gélose. Par contre, quand on ensemence une parcelle de ces dernières cultures sur de la gélatine ou sur des pommes de terre, on obtient alors de nouveau des cultures absolument normales du *M. prodigiosus*. M. Kübler pense donc que le séjour dans le milieu acide ne produit pas une variation de forme durable, mais seulement un arrêt de développement qui, en ralentissant la division des articles, produit la forme filamenteuse, et entrave également la fonction chromogène et le pouvoir de liquéfier la gélatine, variations de forme et de fonctions qui disparaissent de nouveau très-vite, dès que l'on cultive cet organisme pendant deux générations sur un milieu solide.

Le fait observé par M. Kübler est, sans doute, parfaitement exact, mais nous ne voyons guère pourquoi il semble faire intervenir, pour l'expliquer, la solidité du milieu nutritif. M. Kübler n'avait pas acidifié ses milieux solides — du moins il ne le dit pas, — et il est évident que ce qui a rendu au *M. prodigiosus* modifié sa forme première, c'est le fait de se retrouver dans un milieu alcalin ou neutre ; car, dans ce cas, ainsi que M. Wasserzug a eu soin de le dire lui-même, le retour à la forme primitive est la règle. Une seule fois, dans les expériences de ce dernier savant, après 15 cultures dans un milieu acide, le retour dans le bouillon alcalin

avait reproduit d'une façon persistante, sinon la forme filamenteuse, du moins la forme bacillaire, quoique encore accompagnée, dans ce cas, de microcoques. Aussi, M. Wasserzug croyait-il qu'il faudrait sans doute prolonger les cultures dans les milieux acides pour que les bacilles existent seuls dans les milieux alcalins.

E. F.

A. D'Espine. — **Du traitement local de la diphtérie par l'acide salicylique** (*Revue médicale de la Suisse romande,* IX, n° 1).

Les recherches de l'auteur, commencées il y a plus de deux ans, l'amènent à confirmer, comme MM. Roux et Yersin, la spécificité du bacille découvert par Lœffler, et à constater que ce bacille ne pénètre point dans la circulation, mais qu'il détermine une intoxication de l'organisme par les produits qu'il fabrique sur place et qui sont résorbés. Il a étudié, en outre, l'action parasiticide sur ce microorganisme de divers médicaments employés dans le traitement de la diphtérie. Le benzoate de soude (5 à 10 °/₀), le chlorate de potasse (5 °/₀), l'acide borique (4 °/₀), le foie de soufre (sulfure de sodium à 2 1/2 et 5 °/₀), mis en contact pendant cinq minutes avec le bacille, n'ont point empêcher son développement. Celui-ci a été arrêté dans les mêmes circonstances par le sublimé (1/8000), par l'acide phénique (2 °/₀), par l'acide salicylique (1/2000), par le chloral (1/100), par le permanganate de potasse (1/2000), etc. Ces résultats ont conduit le savant professeur de l'Université de Genève à employer pour le traitement local de la diphtérie l'acide salicylique, qui se distingue avantageusement des autres antiseptiques expérimentés par sa faible toxicité.

Le moyen qui a donné les meilleurs résultats à l'auteur consiste dans des *irrigations* répétés toutes les heures ou toutes les deux heures, suivant la gravité du cas, soit par la bouche, soit par les fosses nasales, avec une solution d'acide salicylique à 1 1/2 à 2 pour mille, que l'on abaisse chez les très jeunes enfants à 1/1000 et même à 1/1500. Ces irrigations se font dans la bouche avec l'irrigateur ou une grande poire, et, dans le nez, en versant dans chaque narine une à deux cuillerées à soupe de la solution, suivant le procédé indiqué par Rigauer. Un à deux litres de la solution peuvent être employés dans les premières vingt-quatres heures. Chez les enfants d'un certain âge, les gargarismes peuvent remplacer les irrigations. Quand les fausses membranes sont très étendues et surtout très épaisses, il devient nécessaire de combiner avec les irrigations des badigeonnages ayant pour but de ramollir et de dissocier les produits diphtéritiques. L'auteur se sert, dans

ce but, surtout du jus de citron qui, dans ses expériences, a montré une action parasiticide très nette contre le bacille de Loeffler.

Le traitement de la diphtérie par l'acide salicylique n'est point nouveau, comme le reconnaît l'auteur lui-même, et, s'il a de fervents défenseurs, il a aussi ses détracteurs. Néanmoins, les résultats obtenus par M. d'Espine, au moyen de son procédé, dont l'originalité consiste surtout dans les grandes quantités de liquide qu'il emploie pour les irrigations, paraissent des plus encourageants. Il est également à noter en faveur de ce procédé qu'il n'est pas dû, comme la plupart des remèdes préconisés contre ce mal, au simple empirisme, mais que son emploi paraît, au contraire, justifié par son action sur le microbe spécifique.

E. F.

C. J. Eberth. — **Le bacille typhique passe-t-il au fœtus?** (*Fortschritte der Medicin*, VII, 5, p. 161).

Quelques auteurs ont déjà affirmé le passage du bacille typhique au fœtus après avoir réussi à obtenir, en ensemençant des parcelles d'organes de fœtus expulsés par des mères typhiques, des cultures présentant les caractères du microorganisme de cette maladie (Reher et Neuhauss). De même, MM. Chantemesse et Vidal l'ont trouvé dans le sang placentaire. A ce cas, M. Eberth en ajoute un nouveau, qui paraît tout particulièrement probant, en raison des circonstances dans lesquelles l'étude du fœtus a pu se faire. Il s'agissait, en effet, d'un fœtus de femme typhique, expulsé en parfait état de conservation et avec un chorion intact, en sorte que toute infection fortuite, par des germes étrangers, semble pouvoir être exclue. Le sang et la rate donnèrent des cultures typiques, ainsi qu'il résulta de leur examen prolongé sur divers milieux nutritifs. Le professeur Gaffky, bien connu par ses travaux sur ce microbe, les examina également et se prononça pour leur identité avec celles du bacille typhique. Dans les préparations microscopiques du sang du cœur et du suc des poumons et de la rate, l'auteur en découvrit quelques exemplaires. Dans les coupes de la rate, par contre, il ne put réussir à les déceler. L'auteur n'a pas constaté de lésions placentaires (hémorrhagies) pouvant expliquer ce passage; le nombre de faits de cette nature, observés jusqu'ici, lui paraît toutefois trop limité pour que l'on puisse décider maintenant déjà si ce passage s'effectue régulièrement ou s'il faut des circonstances spéciales pour qu'il puisse se produire.

E. F.

Dr H. Bitter. — **De la diffusion des vaccins et de l'extension de l'immunité vaccinale dans le corps de l'animal vacciné** (*Zeitschrift für Hygiene*. t. IV, 2, p. 299).

Dans son précédent travail sur la théorie de l'immunité par épuisement du milieu nutritif, M. le Dr Bitter, citant le fait que, dans la vaccination charbonneuse, les bactéries atténuées ne se développent que dans le voisinage immédiat du point d'inoculation, sans pénétrer plus en avant dans l'économie, renvoie, pour de plus amples détails, au mémoire spécial dont nous venons d'indiquer le titre. Il paraissait nécessaire, en effet, pour pouvoir juger des différentes hypothèses émises sur le mécanisme de l'immunité, de déterminer exactement où et dans quelles mesures les bactéries atténuées inoculées pullulent dans le corps, et quelles modifications, passagères ou durables, elles produiseut au point d'inoculation ou dans d'autres parties du corps; puis aussi de rechercher si l'immunité acquise persiste, quelle que soit la voie de l'infection, et si les animaux vaccinés ne résistent qu'à l'inoculation de faibles doses de matière virulente, ou bien s'ils supportent aussi de fortes doses. Telles sont les questions, peu étudiées jusqu'ici, que M. le Dr Bitter a tâché de résoudre en ce qui concerne le charbon.

Les vaccins servant à ces expériences avaient été envoyés par M. Boutroux, à Paris; des cultures sur plaques en démontrèrent la parfaite pureté. Le premier vaccin ne croissait que lentement sur plaques, et maigrement quand il était inoculé par piqûre sur gélatine; dans le bouillon, il formait peu de flocons. Le second vaccin se développait plus vite et plus abondamment. Nous citons cette observation de M. le Dr Bitter, parce qu'elle corrobore celles de M. le Dr Smirnow, que nous avons déjà analysées.

Après s'être préalablement assuré de l'efficacité des vaccins, M. le Dr Bitter injecta alors, par la voie sous-cutanée, le premier vaccin à la dose de 0,12cmc, à une série de moutons. L'un de ceux-ci fut sacrifié 10 heures après l'injection. Le tissu sous-cutané, à l'endroit de l'inoculation (la surface interne de la cuisse, où se pratiquaient les injections de vaccin, était toujours rasée et nettoyée à fond, pour faciliter les recherches), était normal et les glandes lymphatiques, du côté vacciné, ne présentaient également aucune altération. Les cultures sur plaques, faites avec des parcelles du tissu sous-cutané, prises à 3 et 5cm du point d'inoculation, ainsi qu'avec des morceaux d'organes et du sang (2 à 10 gouttes), ne donnèrent aucune colonie de la bactéridie charbonneuse. Les coupes n'en révélèrent point non plus. Un second mouton, sacrifié au bout de

20 heures, présentait une légère hyperhémie et une infiltration séreuse au point d'inoculation. Les plaques faites avec des parcelles de ce tissu hyperémié, prises même plus haut, à 3 et 5cm du point d'inoculation, donnèrent quelques centaines de colonies du premier vaccin ; les organes, le sang et les glandes lymphatiques du côté vacciné ne donnèrent rien. Dans la sérosité, se trouvaient passablement de leucocytes polynucléaires, entre lesquels de nombreuses bactéridies, pour la plupart considérablement dégénérées. Un autre mouton, sacrifié 48 heures après l'injection, ne présentait plus que peu d'hyperhémie au point d'inoculation. Aucune des cultures sur plaques, faites comme plus haut, ne donnèrent de colonies du bacille. Dans les coupes de la peau, on voyait une agglomération de leucocytes dans les parties profondes du derme. Cette infiltration, très peu accusée au centre, augmentait peu à peu, pour atteindre son maximum d'intensité à environ 3cm du point d'inoculation. De là, elle décroissait de nouveau et, à 5cm environ, la peau était de nouveau tout à fait normale. Dans le centre du point d'inoculation se trouvaient quelques rares bacilles entre les leucocytes polynucléaires ; ils étaient plus nombreux, par contre, dans la zone suivante, s'étendant jusqu'à 2 1/2cm du centre, où ils se trouvaient *exclusivement* dans les interstices du tissu connectif et principalement dans les parties limitées par le tissu sous-cutané. Ils s'étaient allongés et avaient pris la forme de longs filaments. L'auteur n'a que très rarement trouvé des bacilles dans les leucocytes ; si M. Metschnikoff a observé ce phénomène, cela tient, vraisemblablement, dit-il, à ce que les observations de ce savant ont été faites très peu de temps après l'injection. Il est très probable alors que les bacilles atténués que l'on inocule meurent rapidement et qu'ils deviennent alors la proie des leucocytes. Avec un dernier mouton enfin, sacrifié au bout de 5 jours, le résultat des cultures fut le même, et toutes les plaques restèrent stériles, bien qu'un certain nombre d'entre elles eussent été ensemencées avec des parcelles de la peau tout entière, eu égard au fait que, dans le cas précédent, l'examen microscopique avait révélé la présence des bacilles dans les parties profondes du derme. Dans les coupes de la peau, on ne retrouva plus, non plus, un seul bacille ; l'agglomération des leucocytes avait aussi diminué.

Une seconde série d'expérience fut faite avec le second vaccin qui fut inoculé à un mouton ayant déjà reçu le premier vaccin. Là aussi toutes les plaques restèrent stériles, et on ne trouva, en outre, dans les préparations que des bacilles fortement dégénérés.

M. le Dr Bitter conclut de ces expériences que la pullulation de

la bactéridie charbonneuse atténuée dans le corps du mouton est excessivement restreinte. Les bacilles du premier vaccin seul croissent distinctement, mais sans dépasser le voisinage du point d'inoculation. Ceux du deuxième vaccin semblent mourir très rapidement, sans que l'on puisse constater leur augmentation dans le derme, faits qui ne s'accordent guère ni avec la théorie de l'immunité par épuisement, ni avec la théorie de l'immunité provoquée par des substances solubles que formeraient les bactéries dans l'organisme.

En présence de ces résultats, il devenait intéressant de rechercher jusqu'à quel point va l'immunité conférée par ce faible développement de la bactéridie atténuée. Dans ce but, trois moutons vaccinés préventivement furent inoculés six semaines plus tard en différents endroits du corps avec des bacilles charbonneux qui avaient tué un mouton non vacciné en 32 heures. L'expérience montra que les moutons vaccinés restaient réfractaires, quelque fut l'endroit de la piqûre. Ils résistèrent de même à l'injection intra-veineuse (1 et 2ccm) de cultures virulentes sans spores et d'émulsions concentrées de spores. Pour savoir si les spores sont tuées dans l'organisme, ou bien si l'immunité les empêche seulement de germer, M. le Dr Bitter sacrifia un des moutons 6 jours après l'injection, et ensemença des plaques de gélatine avec des parcelles d'organes. Les reins, le foie et la rate donnèrent un nombre considérable de colonies, de 6 à 130 par plaque. Un second mouton, tué 19 jours après l'injection, donna dans les plaques ensemencées avec la rate et le foie de 30 à 200 colonies par plaque. Dans les deux cas, le séjour des spores dans l'organisme réfractaire ne leur avait rien enlevé de leur virulence.

M. le Dr Bitter semble croire que ce fait est en contradiction avec l'expérience de M. Metschnikoff, que nous avons relatée plus haut à l'occasion du travail de M. Bitter sur la théorie de l'immunité par épuisement du milieu. Nous remarquerons toutefois que M. Metschnikoff dit expressément que toutes les bactéridies dépourvues de spores étaient atténuées par la culture dans le sang des moutons réfractaires. Les cultures qui avaient eu le temps de former des spores étaient toujours virulentes.

S'appuyant sur ces expériences, M. le Dr Bitter arrive ainsi à la conclusion que l'immunité conférée par les vaccinations préventives, selon la méthode de M. Pasteur, s'étend à l'organisme entier et que l'animal vacciné reste réfractaire, quelle que soit la voie d'inoculation et la dose des bacilles virulents que l'on injecte dans la suite. M. Koch et d'autres expérimentateurs n'ayant toutefois

pas obtenu ce résultat dans chaque cas, il y aura lieu de rechercher à quoi tiennent ces effets variables de la vaccination.

Tels sont les faits observés par M. Bitter. Depuis la publication de son travail, toutefois, M. Gamaléia a fait paraître un mémoire (*Annales de l'Institut Pasteur,* II, p. 517), dans lequel l'auteur se trouve amené à affirmer précisément le contraire de ce que dit M. Bitter. Ainsi, M. Gamaléia vaccine une série de moutons, les sacrifie à des périodes diverses de la vaccination et trouve constamment, quand les moutons sont sacrifiés *pendant* la fièvre vaccinale, des bactéridies dans les organes intérieurs et quelquefois dans le sang. Vers la fin de la fièvre, par contre, on ne trouve plus que des bactéridies détruites, inaptes à se reproduire par la culture. Les résultats contraires, obtenus par M. Bitter, tiendraient donc à ce que celui-ci a sacrifié ses moutons en dehors de la fièvre vaccinale.

Les faits avancés par M. Gamaléia semblent bien établis, car ils reposent sur un grand nombre d'expériences, tandis que M. Bitter n'a opéré qu'avec un nombre restreint de moutons. Aussi, les arguments que ce dernier tire de ces expériences contre les théories de l'immunité par épuisement, par la production de substances solubles dans l'organisme, nous semblent-ils fortement ébranlés.

E. F.

Prof. de Giaxa. — **Du nombre des bactéries contenues dans le tube intestinal** (*Giornale intern. delle Scienze mediche,* X, 10, p. 790).

Tandis que MM. Sucksdorff, Vignal, Escherich et d'autres encore se sont occupés d'étudier les qualités morphologiques et biologiques des microbes habitant l'intestin, M. le professeur de Giaxa s'est surtout occupé de déterminer le nombre des microbes hébergés par les différentes parties du tube intestinal. Ses recherches ont porté sur 20 animaux, dont 10 herbivores et 10 omnivores et carnivores. Durant les 4 à 5 jours précédant l'expérience, les animaux étaient soumis à un régime uniforme et régulier, puis sacrifiés 4 à 5 heures après le dernier repas. Des parcelles du contenu de l'estomac, de l'intestin grêle, du gros intestin et du rectum, étaient alors enlevées avec les précautions aseptiques nécessaires, pesées et triturées dans 150 cmc d'eau stérilisée. Cette dilution servait ensuite à faire des plaques (généralement 1/5 de cmc du mélange pour 8 cmc de gélatine). Un tableau indique les résultats de chaque expérience d'une manière détaillée.

Les chiffres varient naturellement dans de sensibles limites dans chaque cas; le contenu stomacal de tel animal, par exemple, donne, ensemencé à la dose indiquée, quelques centaines de colonies seulement par plaque, tandis que d'autres fois les plaques en accusent des millions. Cependant, M. de Giaxa arrive à établir quelques faits généraux intéressants. Ainsi, chez les herbivores, on constate généralement une augmentation des bactéries dans l'intestin grêle comparé à l'estomac (environ 2 à 8 fois le nombre des bactéries trouvées dans celui-ci). Dans le gros intestin également, leur nombre est plus considérable que dans l'estomac et dépasse aussi presque constamment le chiffre des microbes trouvés dans l'intestin grêle. Dans le rectum, les chiffres sont plus variables, quelque fois au-dessus, quelque fois au-dessous des chiffres du gros intestin. En général, les fèces liquides, et ceci est vrai, tant pour les herbivores que pour les carnivores, sont plus riches en microorganismes que les selles solides. Chez les omnivores et les carnivores, en revanche, l'augmentation du chiffre des bactéries constaté dans l'intestin grêle des herbivores fait défaut dans la presque totalité des cas (9 sur 10), d'où l'on peut conclure que, chez eux, la majeure partie des microorganismes introduits dans l'estomac y sont détruits et trouvent dans l'intestin grêle un milieu peu favorable à leur reproduction. Leur nombre s'élève d'autre part, fortement dans le gros intestin, comme chez les herbivores. Dans le rectum, leur chiffre varie également comme chez ces derniers.

E. F.

Dr S. Kitasato. — **De la façon dont se comportent les bactéries du choléra dans les fèces humaines** (*Zeitschrift für Hygiene*, V, 3, p. 485).

On sait que quelques auteurs ont affirmé que les bactéries du choléra contenues dans les excréments y périssent rapidement à la suite de l'envahissement par les saprophytes. D'autres, au contraire, ont prétendu qu'elles pouvaient s'y maintenir vivantes pendant des semaines.

Pour dissiper ces contradictions, l'auteur du mémoire que nous citons a versé 8-10 cmc d'une jeune culture de bouillon de bactéries du choléra dans des cylindres de verre préalablement stérilisés et remplis d'excréments frais, et, après avoir bien mélangé le tout, il en a fait des plaques d'Esmarch d'heure en heure. Il résulte de ces expériences qu'au bout de 8 à 10 heures il se développe encore passablement de colonies du bacille cholérique; mais après

1 1/2-3 jours, elles disparaissent presque complètement; dans un cas seulement sur 15, M. Kitasato put encore trouver 2 à 3 colonies caractéristiques le 3e jour. Pour faciliter la recherche des bacilles de Koch, M. Kitasato se servait cependant, à partir du 5e jour, de la méthode de MM. Schottelius et Gruber, en ajoutant du bouillon au mélange et en le tenant pendant 24 heures à 36°. On sait que dans ces conditions les bacilles du choléra se rassemblent à la surface et qu'on en obtient alors facilement de nombreuses colonies sur les plaques. Cependant, M. Kitasato ne parvint pas à en retrouver, bien qu'il eût continué les essais pendant 20 jours.

Dans les excréments stérilisés, par contre, les bacilles cholériques restent considérablement plus longtemps en vie, car M. Kitasato en a retrouvé encore le 25e jour. Il n'y avait, toutefois, point eu d'augmentation.

Ceci ferait supposer que la destruction des bacilles est due à l'action des bactéries contenues dans les fèces normales. Cependant, on peut aussi se demander si, dans la première série d'expériences, les bactéries du choléra étaient bien mortes. Peut-être, par suite du développement rapide des bactéries de l'intestin pendant les premiers jours, n'étaient-elles que tellement diluées que le procédé des plaques était insuffisant pour les faire retrouver, même en utilisant le procédé de MM. Schottelius et Gruber.

E. F.

Dr V. Tassinari. — **Etudes expérimentales sur l'action de la fumée du tabac sur les microorganismes** (*Centralbl. für Bacteriologie u. Parasitenkunde, IV*, n° 15, p. 450).

L'auteur a soumis un certain nombre de bactéries à l'action de la fumée du tabac. Pour cela, il s'est servi de deux entonnoirs en verre, réunis par de la parafine à leurs bouts évasés, et dans lesquels se trouvait, sur un support de fil de platine, un morceau d'étoffe imbibé d'une culture liquide des organismes mis en expérience. Un cigare ou une cigarette étaient fixés dans le tuyau de l'un des entonnoirs, tandis que l'autre, muni d'une bourre de coton pour empêcher l'infection de l'expérimentateur, servait à aspirer la fumée qui remplissait ainsi l'espace clos dans lequel se trouvaient les bactéries. L'humidité de l'air était entretenue dans les entonnoirs par un morceau de coton mouillé. La fumée était aspirée pendant une demi-heure, après quoi les cultures, fumées de cette façon, servaient à faire des plaques.

Voici les résultats obtenus par M. Tassinari :

La fumée d'un gros cigare Cavour a retardé d'environ 70 heures

le développement du *Bac. prodigius,* du Bac. de la pneumonie, du *Staph. pyog. aureus,* et de 100 heures celui de la bactérie charbonneuse. Le Bac. typhique, le spirille du choléra et celui de Finkler, exposés à cette fumée, ne donnèrent lieu à aucun développement ultérieur, même après 128 heures (à 20-26°), d'où l'auteur conclut à leur mort. L'action de la fumée d'un cigare de Virginie fut sensiblement la même, tandis que la fumée des cigarettes et des petits cigares Cavour ne provoquaient que des retards moins considérables (24-48 heures, 66 et 50 heures pour la bactéridie charbonneuse). Il est à noter que la température n'y était pour rien, car elle ne s'élevait pas sensiblement dans le récipient. La fumée que l'on fait barboter dans de l'eau n'exerce plus aucune action sur les bactéries. L'auteur en conclut que c'est à sa constitution chimique que la fumée doit ses propriétés nocives à l'égard des microorganismes.

Il eût été intéressant d'examiner la virulence des cultures charbonneuses retardées dans leur croissance. On se rappelle que M. le Dr Tavel (voir le premier numéro de ces Annales) a constaté une diminution de virulence de la bactéridie charbonneuse trouvée dans un jambon, et qu'il avait attribué ce fait au fumage. L'hypothèse émise par ce savant trouverait ainsi un appui dans les expériences de M. Tassinari.

E. F.

A. Rudenko. — **Examen bactériologique des glandes lymphatiques de l'auge du cheval morveux** (*Centralbl. für Bacteriologie u. Parasitenk,* V, 8, p. 269).

Comme d'autres expérimentateurs, l'auteur a trouvé dans les ganglions lymphatiques de chevaux morveux le bacille de la morve; mais, et ceci est le point essentiel de ses recherches, il les a constamment trouvés dans les ganglions de l'auge du cheval, à un moment où ceux-ci ne présentent encore aucune trace de tuméfaction. Les ganglions de l'auge excisés à ce moment avec les précautions antiseptiques nécessaires, broyés dans un petit mortier stérilisé et ensemencés sur des tranches de pomme de terre, lui ont donné de belles cultures caractéristiques de la morve, dont l'infectiosité fut établie expérimentalement. On retrouve aussi les bacilles, mais en petit nombre, dans les préparations microscopiques. Ce procédé de culture permettra donc d'établir d'une façon certaine le diagnostic de la morve dans les cas douteux.

E. F.



BIBLIOGRAPHIE

Lahille. — **Tableaux de travaux pratiques,** 8e série : *Echinodermes, Tuniciers* (Faculté des Sciences de Toulouse, Laboratoire de Zoologie).

Continuant sur le même plan ses tableaux, dont nous avons donné l'analyse de la première série dans notre avant-dernier numéro, M. Lahille en publie aujourd'hui la huitième série se réservant de faire paraître ultérieurement les séries intermédiaires.

Les types étudiés sont : Holothuride — *Cucumaria Planci.* Echinide — *Strongylocentrotus lividus.* Stelleride — *Asterias glacialis.* Ophiuride — *Ophiotrix alopecurus.* Crinoïde — *Antedon rosacea.* Enteropneuste — *Balanoglossus Clavigerus.* Chætognates — *Sagitta bipunctata.* Appendiculaires — *Oikopleura dioïca.* Salpes — *Pegea bicaudata.* Aplousobranches — *Clavelina lepadiformis, Leptoclinum maculosum.* Phallusiadés — *Phallusia mamillata.* Molguliadés — *Ctenicella appendiculata.* Acraniens — *Amphioxus lanceolatus.*

F. D.

Butschli. — **Protozoa,** livr. 53, 54, 55, pages 1585-1712. *Bronn's classen und Ordnungen des Thier-Reichs.*

Ce fascicule comprend la fin de la division des Infusoires ciliés, la conjugaison, la copulation, l'enkystement. Il comprend en outre le commencement de la classification des ciliés complètement remaniée par l'auteur. Le professeur Bütschli n'admet plus la classification aujourd'hui insuffisante de Stein, et s'attache à grouper les Infusoires en familles naturelles. C'est ainsi que l'on trouve dans l'ordre I des *Gymnostomata*, des groupes entiers *Chilodontina, Erviliina,* etc , placés à côté des *Nassula* dont ils se rapprochent beaucoup plus que des *Oxytrichides* à côté desquels on les rangeait autrefois en raison d'un caractère unique tiré de la ciliation. Bien que, par la seule inspection des planches qui accompagnent le texte, on puisse prévoir, d'une façon assez complète, les grandes lignes de la nouvelle classification, nous croyons devoir

en remettre l'analyse plus étendue au moment où elle aura paru entièrement, et nous pourrons alors en donner un tableau d'ensemble qui permettra de l'embrasser plus commodément d'un coup d'œil.

F. D.

J. COSTANTIN. — **Les mucédinées simples.** — Matériaux pour servir à l'histoire des Champignons, vol. II. Paris, Klincksieck, 1888, in-8°, VIII, 210 pages. 190 fig. dans le texte.

Les naturalistes qui s'occupent de l'étude des êtres inférieurs sont très souvent empêchés dans leurs travaux par l'impossibilité où ils se trouvent de déterminer avec précision des formes qui ne leur sont pas familières et qui, cependant, les intéressent accidentellement, lorsque ces formes présentent quelque relation biologique avec celles qu'ils étudient. C'est donc toujours avec une grande satisfaction qu'ils voient paraître un ouvrage clair, précis et résumé, destiné à leur fournir rapidement les connaissances dont ils ont besoin. L'ouvrage de M. Costantin sur les *Mucédinées simples* remplit toutes ces conditions. Sous ce terme, l'auteur n'a compris et étudié que les champignons *filamenteux,* vivant à la *surface* des corps dont ils se nourrissent et présentant des *spores externes.* Il a donc exclu du cadre de son ouvrage un grand nombre de moisissures qui se rangent dans les mucorinées, ou champignons filamenteux à *spores internes,* il en a écarté également les ascomycètes, basidiomycètes, les myxomycètes, les urédinées et les ustilaginées.

Des tableaux synoptiques, fort complets et détaillés, permettent d'arriver rapidement à la détermination de chaque genre et renvoient à la page du volume où se trouvent décrites les espèces qui le composent. Le lecteur trouve, en outre, au bas de chaque page, de nombreuses notes bibliographiques qui lui permettent au besoin de pousser plus loin ses recherches. Le côté technique n'a pas été négligé; indépendamment de notions préliminaires sur la culture des mucédinées en général, l'auteur a eu soin de mentionner pour chaque espèce le milieu sur lequel elle vit, et, quand il l'a pu, le milieu de culture qui lui convenait le mieux.

L'excellent ouvrage de M. Costantin fera regretter aux micrographes de n'en avoir point un semblable sur les mucorinées, et il sera pour eux un guide précieux pour la détermination rapide aussi bien que pour l'étude plus complète des espèces qu'ils auront l'occasion d'examiner.

F. D.

Dr A. Pimentel. — **Micrographia atmospherica** (*Revista do impérial Observatorio do Rio de Janeiro,* Dezembro 1888. Janeiro e fevereiro 1889).

Notre savant confrère le Dr Pimentel a commencé, dans la *Revue mensuelle de l'Observatoire impérial de Rio de Janeiro,* une série d'articles du plus haut intérêt sur la micrographie atmosphérique ; le premier de ces articles est consacré à la description des appareils d'investigation installés à l'Observatoire brésilien, et à l'étude des spores cryptogamiques et des poussières atmosphériques très diverses, recueillies à cette importante station. M. Pimentel continue, dans les numéros suivants, à figurer avec soin les éléments aériens aisément discernables au microscope; nous espérons que ces premières recherches seront suivies de recherches approfondies sur les bactériens de l'air, ce qui permettra de comparer fructueusement les résultats obtenus simultanément dans l'ancien et le nouveau continent.

Dr M.

Dr Kuhne. — **Recherche des bactéries dans les tissus des animaux.** Traduit de l'allemand par M. Martin Herman. Brochure de 60 pages, 1888, petit in-8°. — G. Carré et M. Nierstrasz. Paris et Liège.

Tel est le titre d'un opuscule instructif du Dr Kuhne (de Wiesbaden) dont la traduction française, due à la plume très correcte de M. Herman, vient de paraître avec une préface du Dr Firket, le savant professeur de l'Université de Liège. A l'exemple du Dr Kuhne, il serait à souhaiter qne les bactériologues qui ont étudié une branche spéciale de la technique microscopique publiassent de leur côté dans des livres peu volumineux, avec le même soin et la même clarté, la description des méthodes ou des procédés qu'une longue pratique leur a montré les plus utiles et les plus dignes d'être recommandés aux élèves; on serait ainsi bientôt en possession d'une collection de livres précieux, qui ne manqueraient pas de trouver, auprès des étudiants, le succès qu'a justement obtenu celui du Dr Kuhne.

Dr M.

L'Éditeur-Gérant :
Georges CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU ROLE ÉTIOLOGIQUE DE L'EAU POTABLE DANS LES ÉPIDÉMIES DE TYPHUS

PAR

Le Dr F. HENRIJEAN
Assistant à l'Université de Liège

I

Depuis longtemps déjà, on attribue la plus grande importance à l'eau potable dans la propagation de la fièvre typhoïde. En Angleterre et en France, on a établi, par des observations répétées, la réalité du fait que la distribution des eaux alimentaires réglait la marche des épidémies de typhus. Mais ces observations, faites à une époque où la bactériologie était inconnue, étaient basées sur des preuves que nous devons considérer, à l'heure présente, comme insuffisantes. Certes, l'analyse chimique, en établissant la présence de matières organiques dans l'eau potable rendait probable l'influence de celle-ci dans le développement de la maladie; mais, actuellement, nous concevons que l'eau puisse être douée de propriétés infectieuses sans que cependant l'analyse chimique puisse y déceler la présence de matières organiques en quantités appréciables. Ce fait a d'ailleurs été démontré par Brouardel pour ce qui con-

cerne une épidémie de dothiénenterie observée à Pierrefonds (1). On sait, en outre, que beaucoup de microbes pathogènes peuvent vivre très longtemps dans l'eau ordinaire et même dans l'eau stérilisée.

Il résulte de là que l'hygiène moderne ne peut plus se contenter d'à peu près, de probabilités, comme elle le faisait jadis. La science des microbes a permis de dire avec certitude quand l'eau joue un rôle dans la propagation du typhus. Les caractères du bacille typhique sont, en effet, suffisamment définis pour que l'on puisse le reconnaître dans une eau potable. Déjà, plusieurs observateurs sont parvenus à isoler le germe typhique dans l'eau alimentaire. Michael et Moers (2) en Allemagne, Chantemesse, Widal (3) et Thoinot (4) en France, sont dans ce cas. L'influence remarquable de la distribution d'eau de Seine sur le nombre des typhiques entrés dans les hôpitaux de Paris s'explique par la dissémination du germe morbide, retrouvé par Chantemesse et Widal dans l'eau des bornes-fontaines, et par Thoinot dans l'eau de la Seine même.

Nous avons eu l'occasion d'examiner l'eau d'une fontaine publique dans un village des environs de Liège où sévissait une petite épidémie de fièvre typhoïde. Nous avons, comme les auteurs précédents, constaté la présence du germe typhique dans l'eau dont se servaient, pour leur alimentation, les individus atteints par la maladie.

Pour rechercher le bacille pathogène, nous avons procédé de la même manière que Chantemesse et Widal. Une ou plusieurs gouttes d'eau sont versées dans des tubes de gélatine peptone stérilisée. La gélatine est, au préalable, liquéfiée à une basse température. On la verse ensuite sur des plaques de verre sur lesquelles elle se solidifie. Celles-ci sont alors placées dans une chambre humide et maintenues à l'étude à 20°. Comme les auteurs français l'indiquent, nous faisons un grand nombre de ces prépa-

(1) *Archives de Physiologie normale et pathologique*, avril 1887.

(2) *Fortschritt der Medicin*, 1886.

(3) *Archives de Physiologie normale et pathologique*, avril 1887.

(4) *Semaine médicale*, 1887, p. 135.

rations, à plusieurs jours d'intervalle, avec différents échantillons d'eau soupçonnée de contamination. Parmi les plaques ainsi préparées, le plus grand nombre se trouvent rapidement envahies par des germes vulgaires de l'eau. Mais, à côté des colonies banales qui ne peuvent donner lieu à aucune erreur, on en observe un certain nombre, développées dans la profondeur de la couche de gélatine peptone, dont les caractères peuvent donner matière à confusion.

Nous pêchons, au moyen de l'aiguille de platine, des germes dans toutes ces colonies, et nous les inoculons par piqûre dans des tubes à réaction renfermant de la gélatine peptone solidifiée. Parmi les germes ainsi inoculés, un grand nombre se sont développés et ont donné lieu à la formation de cultures qui n'avaient nullement l'apparence ordinaire des cultures de bacille typhique. Deux, au contraire, offraient l'aspect ordinaire de ces dernières.

Au moyen de celles-ci, nous avons alors fait de nouvelles cultures en plaque, sur gélatine solidifiée, dans le bouillon et, enfin, sur pommes de terre. Dans les cultures en plaques, les colonies offraient les caractères suivants : tout au début de leur apparition, elles ont l'aspect de petites gouttelettes claires, nettement limitées et arrondies; la surface de ces gouttelettes est finement granuleuse. Lorsque ces colonies sont plus développées, ou lorsque l'on observe celles qui sont parvenues à la surface de la plaque, en contact avec l'oxygène, on voit les bords devenir irréguliers, festonnés; la surface de la colonie est creusée de sillons, irrégulièrement plissée; la colonie est blanche. Ces colonies ne liquéfient pas la gélatine sur laquelle elles se développent.

Si l'on pêche, au moyen de l'aiguille de platine, des microbes dans ces colonies et qu'on les transporte dans la gélatine nutritive solidifiée, on obtient des cultures par piqûre ou en trait présentant les caractères suivants : Quand les germes sont peu nombreux, on voit se former par piqûre, dans la gélatine, de petites colonies arrondies qui n'offrent rien de bien caractéristique. La surface de la gélatine se recouvre d'une couche mince qui peut offrir

des caractères un peu différents dans les différentes cultures.

Tantôt, en effet, la culture se présente sous forme d'une pellicule mince, laiteuse, transparente, dont les bords, finement festonnés, offrent des reflets irisés ; tantôt, au contraire, la couche formée par les microbes est plus épaisse, blanche, opaque. Le trait formé par l'aiguille est également blanc, opaque, finement dentelé. Quand les cultures sont anciennes, on voit se former, dans la gélatine, des modifications de couleur qui apparaissent surtout dans la profondeur.

Le milieu nutritif se colore fortement en brun ; on voit alors apparaître, autour de l'extrémité du canal de la piqûre, et également autour des colonies isolées, une auréole brune, couleur tabac, dont l'origine nous est inconnue.

Dans les cultures en trait, le bacille que nous avons isolé de l'eau offrait les mêmes différences que la partie superficielle des cultures par piqûre. Ces différences tiennent aux variations d'épaisseur de la couche des microbes.

Cultivé dans le lait, ce bacille se développe très bien sans amener la coagulation.

Le bouillon, maintenu à l'étuve à 22° et inoculé au moyen du bacille précédent, devient louche après 24 heures, puis on voit se déposer au fond du matras un dépôt blanc sale. La coloration du milieu de culture se fonce peu à peu et devient, finalement, rouge, d'une teinte rappelant celle des urines fébriles ou même ictériques. Ce fait est à rapprocher des modifications de couleur que nous signalons dans la gélatine.

Les cultures sur pommes de terre sont les plus importantes au point de vue du diagnostic du bacille typhique. Celles obtenues au moyen du microbe que nous avons isolé prouve que nous avons bien eu affaire au même germe pathogène.

En effet, même après plusieurs jours, les pommes de terre inoculées ne présentaient, à l'œil nu, aucune modification appréciable.

Cependant, en promenant l'aiguille de platine sur la surface de culture, et en diluant ce qui avait été enlevé dans de l'eau stérilisée, on constatait la présence de nombreux bacilles.

Ceux-ci, inoculés dans la gélatine, reproduisaient les cultures caractéristiques précédemment décrites.

Examiné au microscope, le bacille que nous avons obtenu présentait, comme cela a été signalé par plusieurs auteurs, des dimensions variables, suivant les milieux de culture.

Tantôt, c'était un petit bâtonnet grêle; tantôt, comme dans les cultures anciennes, il offrait la forme d'un filament allongé, sinueux. Nous avons observé dans des cultures anciennes les formes du bacille offrant l'espace clair dont la signification a été si discutée.

Le bacille que nous avons isolé offrait la mobilité caractéristique du bacille d'Eberth.

Nous avons, d'ailleurs, comparé les cultures que nous avons obtenues au moyen du bacille retiré de l'eau avec des cultures de bacille typhique et de *Bacillus coli commune* que nous devons à l'obligeance de M. le prof. Van Ermengem, de Gand (1), cette comparaison nous a confirmé dans notre manière de voir. Nous avons donc isolé dans l'eau, de même que les auteurs précédemment cités, le germe de la dothiénentérie.

II

L'eau que nous avons examinée provenait du hameau de Sindrogne, situé à quelques lieues de Liège, dans un pli de terrain qui l'abrite contre les vents du nord, à une altitude de 260 mètres environ, à égale distance à peu près de l'Amblève et de la Vesdre. Ce hameau se compose d'un groupe de 28 maisons qui bordent la route de Louveignez. Cette route se bifurque au centre du village. C'est au

---

(1) Je prie M. le professeur Van Ermengem de recevoir ici l'expression de toute ma gratitude pour la complaisance avec laquelle il a toujours mis à ma disposition les richesses de son laboratoire.

point de bifurcation que se trouve la fontaine publique à laquelle s'alimentent tous les habitants du hameau.

L'eau de cette fontaine provient d'un ruisselet qui prend sa source au nord de la localité, et forme un réservoir immédiatement au-dessus de la route, sous laquelle il passe, tandis que la fontaine se trouve immédiatement en contrebas de la route, sous le pont. Le réservoir est à ciel ouvert.

Le premier cas qui est apparu, s'est montré dans la première maison, à l'extrémité ouest du village, chez une jeune fille de 15 ans, n'ayant jamais quitté la localité. La maison possède, dans la cave, une source qui sert uniquement pendant l'hiver; l'été, en effet, elle est à sec. Au moment où la maladie est apparue, les habitants de la maison faisaient usage de l'eau de la fontaine publique. Ce cas a été observé le 1er juillet. Le 4, un second cas éclate à l'extrémité opposée du village. Les personnes atteintes faisaient usage de la même eau que la précédente; dans cette maison, on voit successivement apparaître 3 cas de typhus chez des personnes n'ayant jamais quitté la localité.

Les cas qui apparaissent successivement sont d'abord observés dans les maisons qui avoisinent immédiatement la fontaine; puis ensuite, l'épidémie se déclare dans une série de maisons adjacentes, en s'éloignant du réservoir, dans la direction de la maison où est apparu le premier cas. Il y a eu, en tout, 32 cas, et seulement 2 décès.

Les maisons qui ont le plus souffert sont celles qui ont été atteintes en dernier lieu. C'est un groupe de 6 maisons contiguës, où il n'y a pas eu moins de 15 cas. Nous n'avons pu nous rendre compte si, dans ces habitations, il existait un mode particulier de contamination, ayant visité trop tard le lieu de l'épidémie. Il aurait été intéressant, en effet, de savoir comment se faisait l'éloignement des matières fécales et de rechercher s'il n'y avait pas une contamination locale possible des boissons ou des aliments.

C'est, évidemment, dans des épidémies localisées, comme celles de Sindrogne, qu'il est le plus facile de se livrer à des observations bactériologiques pouvant être d'un immense intérêt au point de vue de l'hygiène; mais, pour

cela, il faudrait être prévenu dès l'apparition de la maladie, afin de pouvoir se livrer à une enquête scientifique de quelque valeur.

La publication d'observations comme la nôtre, tire surtout son importance du fait qu'elles sont de nature à influencer les pouvoirs publics, et à les amener à recourir plus souvent et plus tôt à l'analyse bactériologique des eaux soupçonnées.

L'origine de la maladie est, ici, absolument inconnue. Le premier cas a, évidemment, pris sa source dans l'absorption d'eau de la fontaine, comme tous les autres cas. En effet, la malade n'ayant pas quitté la localité et, d'autre part, le second cas ayant suivi le premier de 3 jours, on ne peut admettre que ce soit le premier qui ait été la cause du second.

Lorsque nous avons examiné les eaux de la fontaine, il y avait dix jours que l'on n'avait plus observé de nouveaux cas de typhus et, depuis, on n'en a plus signalé; cependant, nous avons reconnu la présence du bacille typhique dans l'eau. Enfin, dans les villages environnants, on n'a pas mentionné de cas de typhus dans la période qui a suivi l'épidémie de juillet-septembre observée à Sindrogne. L'eau du réservoir a dû être infectée directement, peut-être par un passant, un voyageur, portant déjà le germe d'une affection dont les symptômes n'auront acquis une certaine gravité qu'ultérieurement. Peut-être même s'agissait-il d'un cas de typhus ambulatoire. Le jour même de notre visite à Sindrogne, nous avons vu, traversant le village, des musiciens ambulants; le gamin qui nous guidait nous a assuré qu'il en passait souvent par le village.

La contamination de la fontaine ne pouvait provenir d'un endroit en amont, attendu que le ruisseau qui aboutit au réservoir prend sa source près du village dans la direction du Sud.

Les villages et les localités environnantes n'ont pas été infestées parce que le ruisseau se perd au nord du village, dans des terrains marécageux, sans traverser aucune localité, et sans passer dans le voisinage d'habitation.

Si tous les habitants n'ont pas été atteints par la maladie, il n'y a là rien qui doive nous étonner ; nous savons, en effet, qu'il ne suffit pas qu'un individu absorbe un germe pathogène pour devenir malade. Des faits nombreux prouvent, au contraire, que ceux-ci peuvent être assez souvent absorbés impunément. Telles sont par exemple : les expériences de Bochefontaine, sur le choléra, qui n'infirment en rien la valeur du bacille-virgule dans l'étiologie de cette affection. Le germe de la diphtérie a été trouvé par Lœffler dans la bouche d'individus parfaitement bien portants ; enfin, d'après Straus, il semblerait que le micrococque de Neisser peut exister sur la muqueuse urétrale saine.

III

L'épidémie de Sindrogne a commencé au premier juillet et a persisté jusqu'au mois de septembre ; enfin, en octobre, nous avons retrouvé dans l'eau le bacille de la fièvre typhoïde. Cette longue persistance du germe morbide dans l'eau du réservoir est-elle possible sans une nouvelle infection ?

D'après les recherches de M. Bolton (1), Wolfflugel, Riedel (2), Straus, Dubarry (3), le bacille de la fièvre typhoïde continue à vivre dans l'eau après 30, 35, 43, 69, 81 jours.

D'après les derniers auteurs, la vie, même très prolongée dans l'eau, n'entraîne pas de modification appréciable de la virulence des germes pathogènes. Il est donc permis d'admettre qu'une seule infection a suffi pour produire cette épidémie qui a duré environ 3 mois. Peut-être les germes que nous avons rencontrés dans l'eau du réseau ont-ils

---

(1) *Uber. d. Verhalten Verschiedener Bakterienarten in Trinkwasser. Zeitsch. f. Hygiene*, t. I, 1886, p. 76.

(2) *Die Vermehrung d. Bakter in Wasser (Arbeit d. K. Gesundheitsamte)*, t. I, 1886.

(3) *Recherches sur la durée de la vie des microbes pathogènes dans l'eau. Arch. de med. expérimentale*, t. I, page 1.

été contaminés une seconde fois par l'un des derniers malades, mais cette seconde contamination ne se serait point traduite par une nouvelle épidémie, attendu que le hameau était, pour ainsi dire vacciné : ceux qui étaient prédisposés ayant été malades, les autres conservant leur immunité primitive.

Nous avons dit que les localités environnantes, bien que peu distantes de Sindrogne, étaient cependant demeurées à l'abri de la contagion. Cela s'explique par le fait que la transmission du germe typhique par l'air doit être exceptionnelle, si toutefois elle existe.

Les localités en aval du village infesté n'ont pas été infectées, parce que, nous l'avons dit, le ruisseau se perd dans les terrains, et que ceux-ci constituent des filtres parfaits au travers desquels les germes ne peuvent point passer. Cela résulte des expériences de Grancher et Deschamps (1). Ces auteurs ont, en effet, montré que le bacille typhique ne passe pas à travers une couche de terre avec l'eau d'irrigation. Il est retenu à une profondeur de 40 à 50 centimètres.

Si nous avions été appelé à faire l'analyse bactériologique au début de l'épidémie typhoïde et si nous avions connu à ce moment le travail de ces savants sur le bacille typhique dans le sol, nous aurions pu conseiller à l'administration compétente de défendre l'usage du réservoir tout en autorisant celui de la fontaine après construction d'un filtre spécial de sable ou même de terre placé immédiatement au-dessus de la fontaine.

---

(1) *Recherches sur le bacille typhique dans le sol*, par G. Grancher et E. Deschamps. *Archives de médecine expérimentale*, n° 1, janvier 1889.

DIPHTÉRIE HUMAINE ET DIPHTÉRIE DES VOLAILLES

(RECUEIL DE FAITS)

PAR

Le Dr HENRIJEAN

Assistant à l'Université de Liège

Les rapports de la diphtérie humaine avec celle des animaux sont encore, à l'heure actuelle, l'objet de nombreuses controverses. La bactériologie n'ayant pas, jusque dans ces derniers temps, isolé le germe de la diphtérie humaine d'une manière positive, il était bien difficile d'établir si la coexistence de cas de diphtérie chez les animaux de basse-cour et chez l'homme était le résultat d'une simple coïncidence ou si réellement il y avait communauté d'origine.

Le mémoire de Roux et Yersin, disent Thoinot et Mosselin, renverse définitivement la théorie de l'origine avaire de la diphtérie. L'observation clinique, ajoutent ces auteurs, permettrait de différencier les deux affections. Cette objection n'est cependant pas absolument irréfutable. Il est vrai que la diphtérie des oiseaux a une évolution lente et qu'elle ne s'accompagne pas de paralysies comparables à celles que l'on observe chez l'homme, alors que Roux et Yersin ont montré que les animaux qui ne succombent pas dans les premiers jours à l'inoculation du bacille de Loeffler meurent cependant tardivement en présentant des paralysies caractéristiques. Cette manière de voir, qui est celle de Nocard, ne doit pas être prise d'une manière trop absolue. Outre qu'il est démontré que différents bacilles peuvent produire chez les animaux des

affections des muqueuses plus ou moins graves, sans qu'il s'agisse pour cela de diphtérie véritable, il y a lieu de se demander si, même chez l'homme, il n'y aurait pas des diphtéries de causes spécifiquement différentes.

Certes, ces questions ne seront résolues que par l'examen bactériologique, et les études des savants français sont d'une énorme valeur au point de vue des recherches ultérieures. Ce serait, cependant, pensons-nous, une erreur de rejeter les observations cliniques pour restreindre les faits observés dans les limites d'une idée préconçue, si belle et si attrayante fut-elle.

Magnin (1) avait, depuis longtemps déjà, émis l'hypothèse que l'homme pouvait contracter la diphtérie par le contact des pigeons ou des poules malades. Gerhardt et Stumpf (2) ont aussi signalé des cas de transmissions de diphtérie des pigeons à l'homme. Mais, comme le fait judicieusement observer Flügge (3), dans aucun de ces cas il n'est prouvé qu'il s'agissait de la véritable diphtérie. Il est possible qu'il se soit agi d'affections moins graves des muqueuses. Teissier (4), au Congrès d'hygiène de Vienne, rapporte des cas de transmission de la diphtérie des volailles à l'homme. Longuet (5), au même Congrès, penche vers la même manière de voir en s'appuyant sur la fréquence plus grande des cas de diphtérie dans la cavalerie que dans l'infanterie, bien que cette fréquence, d'après le même auteur, ne s'observe pas dans l'armée austro-hongroise où les cas sont, d'ailleurs, beaucoup moins fréquents que dans les armées françaises et allemandes.

Chauveau dit que l'impression qu'il a retirée de l'observation des travaux et des faits publiés est favorable à l'idée d'une identité de la diphtérie humaine avec la forme

---

(1) *Gazette des hopitaux,* 1879.

(2) *Deutsche. Archiv. f. klinische Med.,* Bd., 36.

(3) *Les Microorganismes,* par le Dr Flügge, traduct. Henrijean, page 227.

(4) *Semaine médicale,* 1887, page 427.

(5) *Semaine médicale,* 1887, page 426.

grave de la diphtérie des oiseaux. Turner a observé, en 1883, une épidémie de diphtérie qui a débuté dans une ferme où la volaille était atteinte d'une maladie de la muqueuse respiratoire avec formation pseudo-membraneuse. Il cite également le cas d'un fermier qui, ayant acheté un poulet malade, le rapporta chez lui. Peu après, la diphtérie se déclara dans sa famille et se propagea dans le village qui, jusqu'alors, avait été indemne. Enfin, il signale des cas de diphtérie chez l'homme consécutifs à des affections analogues chez le chat, le cheval et le mouton.

Nous signalerons également une observation qui nous est fournie par notre confrère et ami le Dr Gulikers, de Theux, et qui semble de nature à confirmer la possibilité d'une transmission de la maladie de l'animal à l'homme.

Dans une localité distante de Theux d'un kilomètre à peine, notre confrère a observé 8 cas de diphtérie avec décès dans un rayon de 500 mètres autour d'une exploitation dans laquelle quatre cents poulets étaient morts de diphtérie. La localité où l'affection est apparue est située dans la vallée de la Hoegne, en aval de Theux. Dans cette dernière localité, on n'a observé aucun cas de diphtérie. Mais, en amont de Theux, à Sphixhe, il y a eu, à la même époque, un cas de diphtérie chez un individu marchand de volailles, dont beaucoup avaient succombé à la diphtérie.

Ces faits sont, pensons-nous, intéressants à connaître. Si l'on songe à ce que, dans le cas que nous rapportons, beaucoup d'animaux ont succombé, on est en droit de se demander s'il n'y a pas un rapport entre cette gravité et l'apparition de la maladie chez l'homme.

Quoi qu'il en soit, nous engageons ceux de nos confrères de la campagne qui sont à même de faire des observations analogues à celles qui précèdent, à en avertir aussitôt que possible un bactériologiste, afin qu'il puisse immédiatement faire des recherches sur ce point important d'épidémiologie.

Les notions actuelles sur la variabilité du pouvoir infectieux d'un germe déterminé, dans des conditions variées et chez des espèces animales différentes, sont de nature à faire admettre qu'un même microbe peut produire des

maladies en apparence très différentes. D'ailleurs, les conditions de réceptivité d'un germe pathogène n'étant que fort peu connues, il serait prématuré de s'appuyer sur l'absence même de contagiosité pour admettre l'absence du germe infectieux chez des animaux domestiques.

Cette note, comme celle sur le typhus, a donc pour but essentiel d'engager les médecins, en état d'avertir ceux qui s'occupent de la science des microbes, de le faire le plus tôt possible, sans attendre les lenteurs de la voie administrative.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

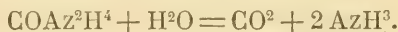
ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE

PAR

Le D[r] P. MIQUEL

On désigne sous le nom de *fermentation ammoniacale* la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque sous l'influence des microphytes.

Ce phénomène n'est pas à proprement parler une fermentation dans le sens encore fort vague qu'on attache à cette expression; il peut et doit être comparé aux hydratations bien connues des chimistes, sous l'action desquelles la saccharose se dédouble en dextrose et lévulose, l'amidon en glucose et dextrine, l'amygdaline en glucose, hydrure de benzoïle et acide cyanhydrique, etc. L'urée, soumise à l'action de certaines bactéries et de plusieurs mucédinées, absorbe 1 molécule d'eau et se change en carbonate d'ammoniaque



$$COAz^2H^4 + H^2O = CO^2 + 2\,AzH^3.$$

Ce phénomène, qu'il est au pouvoir des chimistes d'accomplir sans le secours des organismes inférieurs au moyen des bases énergiques, ou d'une température suffisamment élevée (urée maintenue à 140° degrés en présence de l'eau), les microorganismes l'accomplissent dans la nature à la température ordinaire par des moyens d'action encore inconnus, mais intimement liés à la vie et à la multiplication des cellules organisées.

Le mode d'action des ferments sur l'urée n'est pas actuellement mieux connu que le mécanisme de la transformation de la saccharose en glucose et de la glucose en acide carbonique et alcool ; tout ce qu'on peut affirmer

aujourd'hui, c'est que l'urine ou une solution d'urée rendue nutritive, stérilisée par la chaleur ou la filtration à froid, reste indéfiniment inaltérée sans perdre la faculté de fermenter qui se manifeste, se poursuit et se termine plus ou moins complètement dès l'instant où ces divers liquides reçoivent les microphytes auteurs de la *biogénèse ammoniacale.*

Le présent travail sera divisé en quatre paragraphes généraux : le premier, contiendra l'historique du sujet; le deuxième, décrira les méthodes applicables à la séparation et à l'étude des ferments ammoniacaux; le troisième, comprendra la description d'une douzaine de ferments bactériens bien caractérisés, sur une vingtaine qu'il m'a été donné de rencontrer dans le cours de ces recherches ; enfin, dans le dernier paragraphe, j'exposerai les résultats négatifs auxquels je suis arrivé dans mes essais pour isoler le ferment soluble de l'urée décrit autrefois par M. Musculus.

§ I. — **Historique.**

Si la production du carbonate d'ammoniaque des urines en putréfaction aux dépens de l'urée avait, à la fin du siècle dernier, fixé l'attention de Rouelle, Cruiskank, Fourcroy et Vauquelin, il appartient à Dumas d'avoir donné, vers 1830, l'équation de cette transformation. Mais la cause première de cette décomposition de l'urée échappa à cet éminent chimiste, et même après les travaux de Jacquemart, son élève, entrepris en 1843, et complétés par Muller en 1860, la fermentation ammoniacale ne put être nettement attribuée à un organisme microscopique ; la véritable cause de ce phénomène resta dans l'ombre jusqu'aux observations de M. Pasteur qui, le premier, fut amené à attribuer la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque, à un micrococcus désigné par ce savant sous le nom de *torule ammoniacale.*

« Quant au dépôt, dit M. Pasteur, qui prend naissance sur la paroi et au fond d'un vase d'urine exposé à l'air, il renferme, outre les productions tombées de la surface,

des cristaux de nature variable; mais, ce que je veux surtout faire remarquer, c'est l'existence d'une torulacée, en chapelets de très petits grains, toutes les fois que la liqueur est devenue ammoniacale par la transformation de l'urée. Je suis très porté à croire que cette production constitue un ferment organisé, et qu'il n'y a jamais transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque sans la présence et le développement de ce petit végétal. Cependant, mes recherches sur ce point n'étant pas achevées, je dois mettre quelques réserves dans mon opinion. »

Plus bas, dans ce même Mémoire sur les corpuscules vivants de l'atmosphère, M. Pasteur ajoute, en décrivant les productions développées dans de l'urine abandonnée à la chute des poussières de l'air : « Il y avait en outre la torulacée en petits grains réunis en courts chapelets...; le diamètre de ces grains était de 1,5 millièmes de millimètre environ. C'est le ferment organisé que je regarde comme le ferment de l'urine, c'est-à-dire celui qui transforme l'urée en carbonate d'ammoniaque, et qui, ultérieurement, par le fait de l'alcalinité qui en résulte, amène le dépôt des urates alcalins et des phosphates ammoniacaux magnésiens (1). »

Il n'est donc pas douteux que M. Pasteur a, pour la première fois, entrevu le rôle important des schizomycètes dans la fermentation ammoniacale.

Une année plus tard, M. Van Tieghem reprenait la question de la fermentation des urines dans sa thèse inaugurale, présentée à la Faculté des sciences de Paris (2); et voici la description que donne M. Van Tieghem du bactérien agent de cette fermentation.

« Le ferment de l'urée est constitué par des globules sphériques où les plus forts grossissements ne permettent de voir ni granulations ni paroi distincte du contenu. Les globules forment de longs chapelets à courbures élégantes, qui remplissent tout le liquide pendant que la

---

(1) Pasteur, *Annales de Chimie et de Physique*, 3e série, t. LXIV.

(2) Van Tieghem, Thèse présentée à la Faculté des sciences de Paris, n° 256, 1864.

fermentation suit son cours. Quand celle-ci est terminée, ils se rassemblent au fond, les chapelets se brisent; aussi, examiné dans un dépôt un peu ancien, le ferment se présente-t-il en courts chapelets ou en petits amas de globules. Dans les chapelets en voie de développement, les globules des extrémités sont souvent plus petits que les autres. D'autres fois, sur trois globules réunis, celui du milieu est plus gros que les autres, et paraît leur avoir donné naissance; les globules restent d'ailleurs, à toutes les époques, parfaitement sphériques; leur développement se fait donc par bourgeonnement. Le diamètre des globules est en moyenne de $0^{mm},0015$, mais varie un peu au-dessus et au-dessous de cette valeur, suivant la nature du liquide où ils se forment. Au microscope, on les voit agités, surtout quand ils sont deux, trois ou quatre, de mouvements browniens très vifs, ce qui tient à leur extrême petitessse...»

Le ferment ammoniacal était donc, pour M. Van Tieghem, un micrococcus en long chapelets bourgeonnant et troublant le liquide pendant l'acte biologique de la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque.

Douze ans plus tard, M. Pasteur (1) est revenu incidemment sur la description de la torule ammoniacale, et voici encore textuellement ses paroles : « Des chapelets de grains, souvent très longs, se forment fréquemment dans les urines. Il ne faut pas les confondre avec le ferment de l'urée, auquel ils ressemblent par le diamètre des grains. Le ferment de l'urée est formé de couples de grains, rarement et peut-être toujours accidentellement joints en chapelets. »

Pour M. Pasteur, le ferment de l'urée était donc un *diplococcus;* pour M. Van Tieghem, un *streptococcus.* Le désaccord que l'on remarque dans les descriptions données du micrococcus ferment de l'urée, par des observateurs aussi habiles, tient vraisemblablement à la non-identité des espèces qui sont tombées sous leur main. A l'époque

(1) PASTEUR et JOUBERT, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. LXXXIII, p. 5 ; 1876.

des travaux de ces deux savants, une semblable erreur était possible, mais on constate avec regret qu'il règnait alors des vues beaucoup trop étroites sur la biologie de la cellule ; il semblait qu'un phénomène chimique déterminé dût avoir nécessairement pour agent un organisme unique, comme, par exemple, le *Micrococcus ureæ*, et que jamais il n'y avait transformation d'urée en carbonate d'ammoniaque en l'absence de ce petit végétal.

Dès l'année 1878, je démontrai le peu de fondement de cette hypothèse et j'affirmai qu'il existait des bactéries en forme de bâtonnets, capables d'accomplir la fermentation ammoniacale avec autant et même plus d'énergie que l'organisme entrevu par M. Pasteur et étudié par M. Van Tieghem. Mais n'abandonnons pas l'historique des recherches effectuées en 1864 par ce dernier savant, sans rappeler qu'il tenta et obtint le premier les cultures du *Micrococcus ureæ* dans les milieux artificiels, et qu'on doit à ses habiles recherches la preuve irréfutable que la transformation, à la température ordinaire, de l'urée en carbonate d'ammoniaque est toujours corrélative de la vie d'une cellule ; ce qui plaça la fermentation ammoniacale au rang des fermentations lactique, butyrique, alcoolique, etc., de même intimement liées au développement des organismes inférieurs.

C'est en 1879 (1) que je décrivis pour la première fois un nouveau ferment de l'urée, différant complètement par l'aspect de la torule ammoniacale, et que je désignai alors sous le nom de *Bacillus ureæ*. Voici, d'ailleurs, quelques citations extraites de cette Note qui établissent la priorité de ma découverte de ce premier ferment bacillaire attribuée à M. Leube, qui ne l'a retrouvé que sept années plus tard, en 1885.

« J'ai isolé, disais-je alors, de l'eau d'égout puisée au collecteur de Clichy, un organisme de la classe des bacilles qui possède, de même que la torule ammoniacale, la propriété de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque,

---

(1) P. Miquel, *Bulletin de la Société chimique de Paris*, t. XXXI, p. 391 ; mai 1879.

bien qu'il s'éloigne par son aspect physique de la production découverte par M. Pasteur.

» Ainsi, la torule se montre en chapelets de grains ou d'articles courts, circulaires (Van Tieghem, Cohn), quelquefois étranglés par le milieu (Pasteur), tandis que mon bacille est formé de filaments très grêles, mobiles, isolés ou réunis au nombre de deux à quatre; la largeur moyenne de ces filaments atteint 0,7 à 0,8 millièmes de millimètre.

» Enfin, dans un milieu humide, la torule et ses semences meurent à une température de 54° à 55°, maintenue pendant deux heures, tandis que le bacille résiste, pendant le même temps, à des températures dépassant 65°. Je n'insisterai pas plus longtemps sur les différences profondes qui séparent, au point de vue botanique, ces deux ferments de l'urée; il me paraît plus important de démontrer jusqu'à quel point leurs propriétés biologiques se confondent. »

A la fin de cette courte Note, je cite quelques expériences qui établissent, en effet, que ce nouveau bacille peut faire fermenter complètement en très peu de jours l'urée tenue en solution dans l'urine normale.

Je suis également revenu, dans l'*Annuaire de Montsouris pour 1882* (1), sur le même organisme, que j'étudie sous tous ses aspects et que je fais croître dans les conditions les plus diverses.

« Les deux ferments ammoniacaux dont la description va suivre sont loin de présenter les caractères microscopiques du *Micrococcus ureæ*.

» Le premier, le plus énergique, apparaît sous la forme d'un être infime en bâtonnets, d'un examen difficile, d'une longueur variable et d'une largeur inférieure à un millième de millimètre.

» Au début de la fermentation, cet être filamenteux se voit très nettement dans les urines, qu'il trouble légèrement; plus tard, ses articles se segmentent, se résorbent ou se pulvérisent, en laissant des spores punctiformes ou sphérules rudimentaires, qu'on a beaucoup de peine à reconnaître au milieu des sédiments précipités.

---

(1) P. Miquel, *Annuaire de Montsouris pour l'an 1882*, p. 469.

» Ainsi, l'on se trouve en présence d'un puissant phénomène d'hydratation accompli sous l'influence d'un microbe dont les traces échappent d'autant plus facilement à nos moyens d'investigation que ces dépôts, où presque rien d'organisé n'apparaît à l'œil armé de très forts grossissements, sont impuissants à provoquer une nouvelle fermentation, le bacille et ses germes ayant péri en peu de temps sous l'action désorganisatrice du carbonate d'ammoniaque produit. Les spores du *Bacillus ureæ* ne sont pourtant pas fragiles ; elles résistent plusieurs heures à une température humide de 96°.

» Le même bacille, cultivé à l'état de pureté, peut produire en moins de quarante-huit heures, la fermentation complète d'un volume quelconque d'urine. Cependant, quand le microbe est gêné dans son développement par la présence d'un bactérien étranger, son action sur l'urée peut être beaucoup plus lente. Le phénomène d'hydratation de la carbamide, habituellement rapide, s'éternise et se complète difficilement.

» Pour terminer en peu de mots l'histoire de ce bacille-ferment, nous ajouterons que ce microbe ne peut être cultivé dans des solutions minérales, que le bouillon Liebig neutre ne convient pas davantage à son développement, à moins qu'il ne soit additionné d'urée naturelle ou artificielle, auquel cas on le voit croître et déterminer la fermentation ammoniacale du bouillon. Enfin, le bacille qui nous occupe est un être *anaérobie*, pouvant accompiir sa mission dans les milieux dépourvus d'oxygène gazeux ; la présence de l'air ne paraît pas le gêner, mais il ne vient jamais former à la surface du liquide, à l'exemple des mycodermes et des bactériens avides d'oxygène, ces pellicules plus ou moins épaisses, cette sorte d'écume grasse dont la présence est presque constante à la surface des liqueurs altérées par les bacilles vulgaires. »

Je n'ai rien à changer aujourd'hui à cette description, du reste parfaitement exacte, mais que je complèterai plus bas dans le paragraphe consacré à la description de cette espèce.

Dans une bonne thèse soutenue à Paris en 1883, sur

l'ammoniurie, par M. Guyard, où il est fait un historique très complet de la fermentation ammoniacale, on trouve de même la description de mon bacille-ferment ; je reprocherai cependant à cet auteur d'avoir figuré inexactement, d'après ma seule description, cette espèce microscopique dont je n'ai encore nulle part donné la représentation graphique.

M. Ladureau (1), dans une Note trop générale sur les ferments de l'urée, constate que mon ferment peut se développer à la façon des êtres anaérobies, et répète ce que j'ai dit à cette occasion.

M. Billet (2) rattache mon bacille et tous les organismes de la fermentation ammoniacale découverts à cette époque et à découvrir ultérieurement à une forme unique, le *Bacterium ureæ*, dont le *Micrococcus ureæ* serait la forme réduite et ultime. Cette assertion n'est pas soutenable ; il existe peut-être des bactériums urophages (je n'ai jamais eu cependant l'occasion d'en rencontrer), mais ce que je puis affirmer, c'est la parfaite individualité des espèces capables de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque. Si parfois quelques-unes d'entre elles présentent quelques formes involutives particulières, ces modifications morphologiques, loin de servir de passage d'une espèce à une autre, constituent un groupe de caractères qui permet de distinguer entre eux les ferments qui nous occupent. Avant d'être aussi affirmatif, il eut été désirable que M. Billet reprît ses expériences en s'entourant des précautions qui doivent nécessairement accompagner les recherches sur les bactéries.

Enfin, dans son savant *Traité de Chimie biologique*, paru en 1883 (3), M. Duclaux rappelle mes recherches sur le *Bacillus ureæ*, depuis longtemps connu des auteurs au courant des questions relatives aux phénomènes biologiques accomplis par les microorganismes. Il y avait donc

(1) Ladureau, *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. XCIX, p. 877 ; 1885.

(2) Billet, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, p. 1252 ; 1885.

(3) Duclaux, *Encyclopédie chimique*, t. IX ; *Chimie biologique*, p. 701 ; 1883.

sept ans que le *Bacillus ureæ* était décrit et rangé parmi les ferments les plus actifs de la carbamide (1), quand M. Leube (2) retrouva de nouveau cette espèce et s'attribua la priorité de sa découverte, priorité d'ailleurs que ne lui refusent pas Flügge et d'autres auteurs allemands souvent assez mal renseignés sur les travaux qui se publient en France. Pour ma part, j'attache une assez faible importance à la découverte du *Bacillus ureæ* en tant que nouveau microorganisme; mais je crois qu'au moment où je publiai mes recherches sur ce bacille, c'est-à-dire à l'époque où le *Micrococcus ureæ* était considéré comme le seul agent de la fermentation ammoniacale, ce fait présentait un grand intérêt au point de vue des théories générales de la fermentation des substances chimiques par les bactéries. Cette découverte pourrait être comparée à celle qui mettrait en évidence l'existence de plusieurs autres microbes capables de déterminer des maladies identiques au charbon, à la tuberculose, au choléra asiatique.

Vers 1885, M. Leube (3) a de nouveau étudié, en Allemagne, les ferments de l'urée; ses recherches ont fait l'objet d'un travail intéressant inséré, avec plusieurs photogrammes, dans les *Annales de Virchow*. Deux bacilles surtout ont été étudiés par lui. L'un d'eux, le plus petit, est identique à celui que j'ai découvert en 1879; l'autre me paraît fort voisin du bacille qu'on trouvera décrit plus bas sous le nom de *Bacillus ureæ* γ. Voici d'ailleurs, brièvement, les descriptions qu'il en donne. Comme toujours, la diagnose de ces espèces est basée sur les caractères macroscopiques que présente leur culture sur la gélatine.

Le premier *Bacillus ureæ* se présente en bâtonnets massifs à extrémités arrondies, habituellement de 2 μ de long sur 1 μ de large. Sur plaques de gélatine, il fournit, dès le

(1) L'urée a reçu également des chimistes les noms de carbamide et d'amide carbonique; ce sont là des synonymes que j'emploierai souvent dans le cours de cette étude.

(2) Leube, *Virch. Archives*, 13 d. 100, p. 540; 1885.

(3) Leube, *loc. citat.*

second jour, une petite tache diaphane qui, en une dizaine de jours, peut atteindre la grosseur d'une pièce d'un centime. Les colonies produisent l'impression d'une lame de verre ternie par l'haleine. Leur croissance s'effectue par zônes concentriques, dont la plus extérieure apparaît dentelée. Les inoculations par traits au fil de platine sont grisâtres, minces et peu fournies; enfin, les cultures vieillies de cet organisme exhalent l'odeur très prononcée de la saumure de hareng.

M. Leube décrit et cherche à caractériser, sans y parvenir d'une manière satisfaisante, deux autres bacilles. un gros bacille à colonies également gris pâle et mon *Bacillus ureæ*. Il signale, en outre, l'existence d'une sarcine, la sarcine des poumons, comme ferment de l'urée. J'ai découvert également un microbe de cette famille, dont l'étude m'a vivement intéressé à plusieurs titres, et sur lequel j'insisterai un peu plus bas.

Le D[r] Flügge mentionne dans son traité « Les microorganismes (1)», un *Micrococcus ureæ liquefaciens*. Je connais plusieurs micrococcus urophages, qui possèdent de même la faculté de fluidifier la gélatine; je rapporterai toutefois ici les caractères physiques sous lesquels il est apparu à ce savant.

Le *Micrococcus ureæ liquefaciens* est formé de cellules arrondies de 1,25 à 2 μ de diamètre, tantôt isolées ou en chaînettes de 3 à 10 éléments, quelquefois aussi en amas irréguliers. Semées sur des plaques de gélatine, elles donnent naissance, après deux jours, à de petits points blancs qui, vus sous un faible grossissement, se montrent formés de disques arrondis à bords nets, de couleur gris foncé. Après avoir atteint la surface, les colonies deviennent notablement plus grandes. A un grossissement de 80 diamètres, elles se montrent comme des disques d'une coloration jaune brunâtre, qui contiennent souvent au centre un noyau foncé, constitué par le reste de la colonie profonde. La surface est granuleuse, les bords deviennent

---

(1) Flugge, *Les microorganismes,* — traduit par le D[r] Henrijean, page 130. — Edition de 1887.

peu à peu ondulés; en même temps, la gélatine se liquéfie. Dans les cultures par piqûres, on voit d'abord se former un trait blanc, constitué par des colonies confluentes; puis la gélatine ne tarde pas à se liquéfier; cette liquéfaction marche et s'étend jusqu'aux parois du vase, et le tube se remplit d'un liquide trouble, au fond duquel se ramasse un dépôt épais, blanc jaunâtre.

En vérité, toutes ces descriptions de cultures sur la gélatine n'ont rien de bien caractéristique; beaucoup de microbes pouvant présenter le même mode de croissance, et chez la même espèce, la couleur et la forme de colonies observées étant fréquemment sous la dépendance de légères variations du milieu demi-solide employé. L'aspect des cultures doit donc occuper un rang très secondaire dans la diagnose des espèces bactériennes, et je vois avec regret que beaucoup d'auteurs pensent avoir tout dit quand ils ont donné complaisamment des détails circonstanciés et minutieux sur la forme, la disposition, la couleur, le mode d'accroissement, la grosseur des colonies produites par tels ou tels microbes. En voulant appliquer uniquement ces sortes d'observations faciles à la différenciation des microbes, on arrivera d'ici à peu de temps à introduire dans la bactériologie une quantité innombrable de descriptions banales applicables à une foule d'espèces hétérogènes, qui auront pour résultat immédiat d'amener la confusion.

Heureusement pour les espèces que nous étudions, le caractère vraiment intéressant réside dans la fonction physiologique, c'est-à-dire dans la faculté de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque. Cette faculté est d'une puissance variable, suivant les espèces considérées, mais elle paraît constante dans les conditions identiques d'expérimentation pour les microbes bien isolés et cultivés à l'état de pureté; c'est ce caractère qui, à mon sens, doit être mis au premier rang, et autour duquel doivent venir se grouper successivement les caractères tout à fait secondaires tirés de l'aspect macroscopique des cultures effectuées dans les divers milieux, soit au contact, soit à l'abri de l'oxygène de l'air.

La transformation de l'urée de l'urine en acide carbo-

nique et ammoniaque, intéresse un chapitre relativement très restreint de la pathologie humaine. Les urinaires, notamment les malades atteints de catarrhe vésical, voient souvent leurs urines devenir ammoniacales, cette complication est grave, en raison de la formation des dépôts abondants qui peuvent s'accumuler dans la vessie et de la causticité que présentent les urines devenues très alcalines; mais c'est là, pour les microbes qui vont nous occuper, un champ d'action restreint et presque exceptionnel, sur lequel je n'ai pas à m'étendre longuement. Le mode d'introduction des ferments de l'urée dans la vessie, qui a soulevé de nombreuses discussions, ne m'occupera pas d'avantage, bien que je me sois livré spécialement à ce genre de recherches. Les microbes pénètrent évidemment dans la vessie par les sondes, quand les organes génitaux urinaires sont sains, les urines ne deviennent jamais ammoniacales par le seul fait de la rétention. J'affirmerai, en outre, que sur quatre malades atteints d'affection médullaire, se sondant eux-mêmes avec des instruments malpropres, dans le sens micrographique de ce mot, je n'ai jamais constaté l'apparition de la fermentation ammoniacale. L'urine de ces malades était fétide, peuplée de bactéries vulgaires, mais conservait son acidité à peu près normale, fait qu'il faut attribuer à l'envahissement du liquide de la vessie par des microbes capables de s'opposer efficacement au développement des ferments ammoniacaux.

Le véritable champ d'action des ferments de l'urée est surtout en dehors de l'économie animale, c'est grâce à l'existence de ces espèces, que l'urée, l'un des résidus ultimes de la combustion des substances quaternaires, restitue au sol, sous forme d'ammoniaque, un azote précieux pour l'agriculture. En considérant uniquement comme source d'urée, à l'exclusion des animaux, les urines excrétés par la population de la France, les agents microbiens qui nous occupent fournissent au sol 130 millions de kilogrammes d'azote par an, soit 130,000 tonnes. C'est à ces auxiliaires précieux de l'agriculteur que je prends la résolution de consacrer quelques articles.

(A suivre.)

LES LABORATOIRES DE MICROGRAPHIE

A L'EXPOSITION UNIVERSELLE DE 1889

I. — ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

L'exposition de l'Ecole vétérinaire d'Alfort, placée dans le pavillon d'agronomie, construit sur le quai d'Orsay, attire vivement l'attention des visiteurs par l'importance et la multiplicité des objets exposés ; elle consacre, comme on devait s'y attendre, un certain espace à la microbiologie, espace bien parcimonieusement dispensé, à notre avis, si on le met en parallèle avec les travaux fort nombreux et fort importants, entrepris et menés à bonne fin par M. Nocard, directeur de cette école.

Parmi les milieux des cultures qui frappent tout d'abord le regard, nous apercevons dans de grosses pipettes distributrices du modèle Pasteur : *du lait de vache* recueilli directement à l'abri des germes, qui se conserve frais et avec son aspect habituel; du *sérum de sang de bœuf;* du *sérum de sang de cheval;* du *suc pancréatique de vache ;* de la *salive parotidienne de cheval*, dont la limpidité est magnifique ; outre ces milieux recueillis aseptiquement, les cultures dans le bouillon, sur la gélatine, la gélose, le lichen, la pomme de terre, stérilisés par la chaleur, occupent une bonne place.

Parmi les microbes chromogènes semés sur les *substrata* demi-solides, nous apercevons le *Micrococcus prodigiosus*, les levûres blanche, rose et noire, la *Sarcina lutea*, la sarcine orange, le microbe rouge de Kiel, etc., mais les cultures des espèces pathogènes sont incontestablement en plus grand nombre. Nous en citerons seulement quelques-unes, afin de donner une idée de leur variété.

La tuberculose animale observée chez la vache, le veau,

le lapin, le faisan, font l'objet d'ensemencements spéciaux; plusieurs séries de tubes et de matras, contenant divers milieux nutritifs, sont consacrés au développement de la bactéridie charbonneuse, des microbes du rouget du porc, de la morve, de la tuberculose zoogélique, du charbon symptomatique, etc.; dans le lait sont cultivés les micro-organismes des mammites qu'on observe sur la brebis et la vache.

Enfin, nous aurons donné une idée assez précise des objets relatifs à la microbiologie exposés par l'école vétérinaire d'Alfort, en signalant encore quelques cultures anaérobies, notamment celle du vibrion septique, pour la plupart effectuées sur tranches de pommes de terre, placées dans les tubes étranglés, tubulés, et scellés du Dr Roux.

II. — Institut National agronomique.

Le laboratoire de fermentation de cet Institut, placé au voisinage de l'exposition de l'Ecole vétérinaire d'Alfort, offre les échantillons des divers microbes, auteurs de la coagulation du lait, de la fabrication du fromage, et de la fermentation des jus sucrés; à gauche des vitrines qui recouvrent ces cultures, se trouve un très beau filtre Chamberland, surmonté d'un réservoir à air, permettant de comprimer à une haute pression, au moyen d'une pompe Gay-Lussac, les liquides destinés à traverser la bougie de porcelaine; cet instrument sert à la filtration du lait. A droite de ces mêmes vitrines se trouve l'appareil si simple et si pratique de M. Duclaux, pour le dosage du lait.

Pour les liquides de culture des microbes qui servent à la fabrication et à la maturation des fromages, le laboratoire des fermentations de l'Institut agronomique nous présente le lait, les bouillons, les substances gélatineuses. Pour la culture des levûres, les liquides employés sont représentés par de beaux échantillons stérilisés de jus de pomme, d'eau de malt, de gélatine, etc. Au nombre des diverses

espèces microscopiques, considérées comme les agents de la fabrication du fromage, nous remarquons le *Tyrothrix tenuis, filiformis, distortus*, etc... dont la description a fait, de la part de M. Duclaux, l'objet d'un mémoire déjà ancien, paru pour la première fois dans les *Annales de l'Institut agronomique*. Quant aux levûres exposées, elle sont très variées. La plupart d'entre elles sont semées sur de la gélatine, où elles apparaissent en taches plus ou moins volumineuses dans des tubes à essais fortement inclinés; nous notons des levûres de vin, de cidre, de bière, de diverses origines, des levûres de fermentation haute et basse. En somme, cette exposition est des plus instructives, mais elle aurait gagné à être placée plus à portée des regards des visiteurs, qui ont une peine infinie à voir et à lire le nom des objets qu'on a rassemblés pour leur édification. L'on sait, en effet, qu'un intérêt des plus considérables s'attache à la plupart de ces microbes, auxiliaires précieux pour les agriculteurs, et auxquels une bonne partie de la France doit sa richesse et sa prospérité!



REVUES ET ANALYSES[1]

A. Pavone. — **Nouveaux points de vue dans l'étude de la question du pouvoir pathogène du bacille du typhus sur les animaux d'expérience** (*Giornale internazionale delle scienze mediche*, X, fasc. 7, 8, 9 et 10).

La question de l'action pathogène du bacille typhique sur les animaux d'expérience n'a pas encore, jusqu'ici, reçu de solution définitive. On sait bien que certaines espèces animales, inoculées avec des cultures de ce microorganisme, succombent plus ou moins rapidement; mais, tandis que les uns (E. Fraenkel et Simmonds, A. Fränkel, Seitz, Chantemesse, Widal, etc.) admettent une véritable infection de l'organisme animal, les autres (Wyssokowitsch, Beumer, Peiper, Sirotinin, etc.) rapportent la mort des animaux à de simples phénomènes d'intoxication, due à l'absorption des ptomaïnes élaborées par le microbe dans les cultures.

Dans le travail très étendu que nous citons, l'auteur, reprenant ces questions, s'est proposé :

1. D'étudier plus rigoureusement qu'on ne l'a fait jusqu'ici la possibilité d'une multiplication des bacilles dans le corps des animaux, point essentiel quand il s'agit de déterminer s'il y a infection ou intoxication.

2. De faire une classification aussi exacte que possible des doses à inoculer, en prenant pour base les phénomènes cliniques.

3. De faire une étude systématique de ces derniers, et en particulier de la température des animaux inoculés.

4. De donner une base positive à l'étude des lésions anatomiques en se basant sur la connaissance de l'anatomie normale des lapins et cobayes mis en expérience.

5. D'entreprendre l'étude systématique des lésions histologiques

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

produites par les bacilles, en les comparant à celles produites par les ptomaïnes.

6. Enfin, d'étudier encore quelques points spéciaux tels que l'absorption des bacilles et ptomaïnes, le sort des bacilles dans l'organisme, la nature probablement complexe des ptomaïnes, l'élimination des bacilles et la possibilité de conférer l'immunité aux animaux.

On le voit, le champ exploré par M. Pavone est vaste, aussi serons-nous obligés d'être brefs pour ne pas être entraînés au-delà des limites d'une simple analyse.

Plusieurs expérimentateurs se sont déjà occupés du premier point étudié par M. Pavone, mais ils se sont bornés, en général, après avoir évalué approximativement le nombre des bacilles injectés, à compter les bacilles contenus dans les préparations microscopiques ou à faire quelques plaques avec une goutte de sang puisé dans les différents organes. M. Pavone a procédé plus exactement : après avoir calculé aussi exactement que possible, et en tenant compte de l'âge de la culture qui influe sur le nombre des bacilles qu'elle contient, la quantité des bacilles injectés, il a soigneusement pesé les organes (foie, rate et reins) et employé pour faire les plaques une émulsion d'une quantité donnée (2 à 5 centigrammes) de ces organes avec de l'eau stérilisée. Connaissant ainsi le poids total de l'organe et calculant par les procédés connus le nombre de germes renfermés dans l'émulsion, il a pu facilement compter approximativement les bacilles contenus dans les organes entiers et conclure de là à une augmentation ou à une diminution. Dans une première série d'expériences, cependant, dans laquelle M. Pavone avait injecté de très petites quantités de cultures typhiques (dans du bouillon) de 0,01 à 0,10 gr., il a cru pouvoir se dispenser de procéder à ces numérations exactes ; il s'est alors contenté de conclure à l'absence ou à la présence des bacilles d'après le résultat des essais de culture fait avec le sang et les organes, et comme sur les 3 animaux qui moururent peu après l'inoculation, un seul avait donné des résultats positifs, il s'est crû autorisé à admettre qu'il n'y avait pas eu de multiplication des bacilles injectés. Il nous semble, au contraire, que ce sont précisément les cas où l'injection d'une très petite dose, semblant exclure une action toxique, que l'auteur aurait dû étudier le plus soigneusement au point de vue de la multiplication et cela d'autant plus que, dans 3 autres cas (sur les 24 de la série), les animaux moururent après 9, 10 et 16 jours. Peut-être une étude plus attentive aurait-elle révélé précisément dans ces cas une prolifération des bacilles si ce n'est dans les organes, du moins au lieu d'inoculation. Dans la seconde

série, M. Pavone injecta des doses plus fortes, de 0,8 cmc à plusieurs centimètres cubes. Le nombre des bacilles injectés variait de 7,500,000 à 300,000,000 et plus. Vingt animaux ont servi à cette série d'expériences. La moitié environ fut sacrifiée peu après, les autres moururent de quelques heures à quelques jours après l'injection ; mais, dans aucun cas, l'auteur ne put constater d'augmentation, même au moyen des procédés de numération cités plus haut. Ainsi, pour citer un exemple, dans un cas où il avait injecté environ 300 millions de bacilles et où l'animal avait succombé deux heures après, il n'en retrouva que 170,000 dans le foie, et pas un seul dans les reins et la rate. M. Pavone examina aussi d'autres organes (parois intestinales, plaques de Peyer, glandes mésentériques, moëlle), mais les bacilles qu'il y trouva quelquefois ne lui semblent pas non plus parler en faveur d'une augmentation des bacilles dans le corps de l'animal. On les retrouve par contre, longtemps en grand nombre au lieu de l'injection, et M. Pavone serait disposé à admettre que de là quelques-uns parviennent à passer dans le torrent circulatoire, mais sans donner lieu à une multiplication. De ces expériences l'auteur conclut donc que la mort des animaux succombant à l'injection de cultures typhiques est due à une véritable intoxication par les ptomaïnes qu'elles contiennent et que les bacilles eux-mêmes, loin de proliférer dans l'organisme animal, y sont rapidement détruits.

En ce qui concerne la question de la dose, M. Pavone distingue entre les doses indifférentes, les doses pyrogènes et diarrhéiques et les doses conférant la mort à bref délai. Trois tableaux donnent les résultats des expériences de M. Pavone à cet égard. L'auteur montre d'abord que les effets de l'inoculation dépendent en grande partie de l'âge des cultures, dont la toxicité va en diminuant avec le temps. Ceci proviendrait de ce que les cultures vieilles contiennent notablement moins de germes vivants que les cultures fraîches, ainsi qu'il résulte des numérations auxquelles il a procédé. Les doses varient donc selon l'âge des cultures. En prenant pour base de jeunes cultures (de quelques jours à deux semaines), on peut dire que les doses indifférentes sont celles qui ne dépassent pas un dixième de centimètre cube par 100 gr. d'animal. Les doses pyrogènes seraient comprises entre 1 et 4 dixièmes de centimètre cube, et les doses mortelles de 4-6 dixièmes de centimètre cube par 100 gr. d'animal. La mort survient alors de 2 heures à 3 jours après l'injection, avec accompagnement de phénomènes nerveux graves.

M. Pavone étudie ensuite longuement les phénomènes cliniques (altérations de la température, diarrhée, poids du corps et nutrition) ainsi que les lésions anatomiques et histologiques. Il serait

un peu long de suivre l'auteur ici : nous relèverons seulement qu'il n'a pas trouvé de lésions dans les plaques de Peyer, en particulier pas d'ulcérations, et qu'en général les altérations anatomiques observées paraissent être le fait de l'élimination des ptomaïnes.

Si les bacilles injectés dans le corps de l'animal ne se multiplient pas et y sont, au contraire, assez rapidement détruits, il devient intéressant de savoir si, pendant qu'ils sont en vie, ils peuvent continuer à secréter les ptomaïnes qu'ils forment dans les cultures artificielles ? M. Pavone ne le croit pas pour deux raisons, d'abord parce que l'on voit des animaux auxquels on a inoculé de fortes doses de bacilles, être malades et puis se remettre, et cependant, quand on les tue pendant la période du rétablissement, on trouve des bacilles vivants dans les différents organes ; il semble donc qu'à ce moment les bacilles ont perdu la faculté de secréter des ptomaïnes, car sans cela l'animal ne pourrait se rétablir tant que cette sécrétion a lieu. Ceci, nous l'avouons, ne nous paraît pas convaincant et il serait tout aussi possible que l'animal, après avoir surmonté l'effet toxique de la dose initiale, soit assez accoutumé au poison pour supporter l'effet des petites quantités de ptomaïnes produites par les bacilles restés vivants et dont le nombre va toujours diminuant.

L'autre preuve, sur laquelle M. Pavone fonde son opinion, est celle-ci : dans de précédentes expériences, il a établi que le bacille du typhus s'oppose dans les cultures artificielles à la multiplication de la bactéridie charbonneuse ; or, en inoculant le charbon à des animaux qu'il avait saturé de virus typhique par des injections répétées, il a vu ces animaux succomber presque constamment au charbon, bien que l'inoculation du charbon eût été faite aux endroits mêmes où avaient eu lieu les injections typhiques et que les bacilles du typhus s'y trouvassent encore vivants, ce qui lui semble prouver que le bacille typhique ne secrète pas dans les tissus vivants la même ptomaïne qui, dans les cultures artificielles, met obstacle au développement de la bactéridie charbonneuse. A nos yeux, ce point spécial n'est pas encore élucidé par M. Pavone, car comment s'expliquer les cas dans lesquels l'inoculation d'une très petite dose de bacilles typhiques provoque la mort au bout de quelques jours seulement ? S'il n'y a pas d'augmentation des bacilles dans le corps, et M. Pavone semble l'avoir prouvé, il paraît au moins dans ces cas assez vraisemblable que les bacilles continuent à secréter leur venin encore pendant quelque temps.

Sur la question de l'immunité, M. Pavone est trop bref ; MM. Beumer et Peiper avaient déjà constaté que de petites doses de cultures vivantes pouvaient conférer l'immunité contre des doses plus

fortes de cultures également vivantes. MM. Chantemesse et Widal ont ensuite montré que les cultures stérilisées étaient aussi douées d'un pouvoir vaccinant. M. Pavone, lui, a seulement recherché si l'injection de petites quantités de cultures stérilisées conférait une immunité contre l'injection de doses plus considérables des mêmes cultures stérilisées qui auraient sans cela provoqué la mort. Ses expériences le prouvent, et il en conclut que ces faits d'immunité — il ne parle, bien entendu, que des animaux de laboratoire — sont d'ordre purement chimique et consistent dans une accoutumance de l'organisme à l'action des ptomaïnes.

E. F.

F. Guyon. — **Sur les conditions de réceptivité de l'appareil urinaire à l'invasion microbienne** (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CVIII, p. 887).

Cet éminent chirurgien établit, par l'expérimentation et par de nombreuses observations cliniques, que la rétention d'urine favorise l'infection de l'appareil urinaire, en rendant effective l'inoculation microbienne; que la réceptivité de cet appareil est en raison même du degré et de la durée de la rétention; que les lésions quelle détermine, aussi bien dans la forme aiguë que dans la forme lente, favorise l'action des agents pathogènes; qu'elles rendent plus durables et plus graves les effets de l'infection.

L'étude clinique et expérimentale de la rétention démontre, en outre, que l'infection reconnaît ordinairement pour cause première, l'inoculation directe de la vessie par les instruments; que dans l'état normal même, chez les sujets à réaction éminemment sensible, l'urètre ne livre pas passage aux germes; que ces derniers ne pénètrent jamais dans la vessie s'ils n'y sont directement introduits. Enfin, M. le professeur Guyon termine sa savante lecture à l'Académie des sciences, en ajontant : « que c'est à l'antiseptie qu'il appartiendra presque toujours de mettre sûrement l'appareil urinaire à l'abri de l'infection, mais que c'est des lésions préexistant à l'introduction des germes, et en particulier de la rétention d'urine, que dépend la réceptivité ».

Dr M.

V. Marcano. — **Sur la fermentation alcoolique du vesou de la canne à sucre** (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CVIII, p. 955).

D'après M. Marcano, quand les liquides sucrés extraits par pression de la canne à sucre fermentent dans les pays tropicaux,

cette fermentation est due à une levûre formée de cellules rondes, brillantes, beaucoup plus petites que celles qui constituent la levûre de bière. Ces cellules sont parsemées de granulations, isolées les unes des autres, et n'adoptent jamais la forme de grappes ou de chapelets. Cultivé en dehors des milieux sucrés, ce saccharomycète se transforme en moisissure, dont les filaments mycéliens envahissent rapidement les solutions d'amidon et de dextrine, où l'on peut aisément observer ce passage curieux de la forme levûre à la forme filamenteuse. En transportant à son tour le mycélium dans le vesou, on reconstitue la forme globulaire du microphyte. M. Marcano ne nous dit pas si le végétal qui s'est présenté à lui est une espèce nouvelle ou une moisissure déjà connue, mais il entre dans des détails intéressants sur son action physiologique.

La levûre qui vient d'être décrite manifeste son maximum d'action entre 30 et 35°. Vers 18 à 20°, la fermentation se ralentit, la quantité d'alcool produit devient médiocre, tandis que le liquide tend à s'acidifier. La concentration du liquide sucré, qui paraît la plus favorable au rendement en alcool, se trouve comprise vers 18 à 19 parties de sucre pour 100 d'eau. Le ferment, tant à l'état de moisissure que de levûre, secrète une diastase inversive. Le liquide fermenté, soumis à la distillation, donne d'abord des produits gazeux d'une odeur désagréable, ensuite de l'alcool méthylique puis de l'alcool éthylique pur, mais les liquides qui viennent *en queue,* doués d'une odeur infecte, ne présentent pas d'alcools supérieurs, comme en contiennent, malheureusement pour la santé publique, les eaux-de-vie de grains. Ces produits ultimes de distillation du vesou renferment surtout de l'alcool faible, tenant en solution un composé huileux, vraisemblablement un acide de la série grasse.

Dr M.

Martinand. — **Etude sur la fermentation alcoolique du lait** (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences,* t. CVIII, p. 1067).

D'après nos connaissances résultant des travaux de MM. Duclaux et Adametz, le lait qui subit la fermentation alcoolique ne se coagule pas à la température ordinaire, mais ne peut être porté à l'ébullition sans subir la coagulation. M. Martinand a trouvé que, dans certaines conditions, les deux phénomènes, fermentation alcoolique du sucre et coagulation du lait, se produisaient avec toutes les levûres, sauf avec le *Saccharomyces apiculatus.* Ces conditions sont réalisées quand on charge le lait en sucre fermentescible et qu'on l'étend d'eau.

Dr M.

P. Canalis et E. di Mattei. — **Contribution à l'étude de l'influence de la putréfaction sur les germes du choléra et du typhus** (Extrait du *Bulletin de l'Académie royale de médecine de Rome*, XV, fasc. 2).

L'action délétère de la putréfaction sur les germes du choléra a déjà été mise en évidence par Koch. D'autres auteurs, MM. Frankland, Nicati et Rietch, et tout récemment encore M. le D[r] Kitasato, dont nous avons analysé ici le travail, se sont également occupés de cette question, particulièrement intéressante au point de vue de l'hygiène. Leurs travaux n'ont cependant pas encore éclairci tous les points; aussi, MM. Canalis et E. di Mattei ont-ils pensé qu'il y aurait quelque utilité à reprendre cette étude, en l'étendant en même temps au bacille typhique. Ils ont, dans ce travail, cherché à établir d'abord si l'action des matières en putréfaction, sur les germes cholériques et typhiques, varie selon l'état plus ou moins avancé de la putréfaction, et, deuxièmement, si cette action est due aux produits chimiques élaborés dans la putréfaction ou à la présence même des microbes contenus dans les matières putréfiées.

Pour résoudre la première partie du problème, les auteurs laissèrent des infusions de viande se putréfier pendant des temps divers (3, 6, 10, 22, 65 et 80 jours) et les mélangèrent, dans des proportions déterminées, avec des cultures fraîches de choléra et de typhus. Dans une première série, ils ajoutaient, à 10 cmc de ces dernières, de 1 à 100 gouttes du liquide putride; dans une seconde série, les cultures étaient ajoutées à la dose de 1 à 100 gouttes, à 10 cmc du liquide putride. Ces mélanges, tenus à 37° et à la température de la chambre, étaient alors examinés (au microscope et au moyen de culture sur plaques) à différentes époques variant de 24 heures à quelques semaines et même quelques mois.

Pour arriver à répondre à la deuxième question qu'ils s'étaient posée, ils opérèrent de la même façon, mais en filtrant préalablement à la bougie Chamberland leurs liquides putrides. Voici comment ils résument les résultats de leurs expériences, dont de nombreux tableaux donnent le détail :

Lorsqu'on mélange des liquides putrides récents (de 3 jours) et à réaction fortement acide, avec des cultures fraîches de choléra, les bacilles-virgules meurent au bout de peu de jours (4), même quand la quantité de liquide putride est peu considérable (1 goutte sur 10 cmc).

Lorsque les liquides putrides sont plus vieux (22 jours), — la

réaction devient alors alcaline — les bacilles-virgules sont encore vivants après 2 et 3 mois, quand on a ajouté peu de liquide putride. Quand on augmente la dose de ce dernier (par quantités égales) les germes cholériques périssent au bout de 3 à 5 jours.

Enfin, les bacilles du choléra supportent encore mieux l'adjonction de liquides putrides plus vieux (65 jours). Ils restèrent, dans ce cas, vivants pendant toute la durée de l'expérience (4 mois et plus); cependant, leur résistance diminue quand on augmente la quantité de liquide putride, et, lorsque celle-ci est trop considérable, ils disparaissent en 8-10 jours.

Quand les liquides putrides sont privés de germes par filtration et vieux seulement de 3-22 jours, et qu'on y ajoute de très petites quantités de cultures cholériques, les bacilles-virgules disparaissent en peu de jours (3 à 4); augmente-t-on, par contre, la quantité de culture, ils restent plus longtemps en vie. Dans les liquides putrides filtrés plus vieux (65 jours), les bacilles du choléra, ajoutés même en très petite quantité, vivent parfaitement bien. La vie du bacille-virgule n'est pas non plus arrêtée lorsqu'on ajoute à des cultures de choléra le liquide putride filtré (jusqu'à parties égales).

Le bacille du typhus se conserve aussi parfaitement dans les cultures mêlées avec des liquides putrides filtrés, et cela quelle que soit la quantité de ces derniers. Avec des liquides putrides non filtrés, les résultats sont, paraît-il, tout autres; mais c'est là un point auquel les auteurs consacreront un mémoire spécial.

De ces observations, MM. Canalis et di Mattei croient pouvoir conclure : que les seuls produits chimiques élaborés pendant la putréfaction à ses différents stades, n'ont qu'une influence très limitée sur la vitalité des bacilles du choléra et sur ceux du typhus, tandis que les microbes producteurs de la putréfaction en exercent une très nocive sur ceux du choléra, action qui doit être considérée surtout comme l'expression d'une lutte pour l'existence entre ces différentes bactéries. Le résultat de cette lutte varie suivant le stade de la putréfaction : dans une première période, les bacilles du choléra périssent rapidement; quand la putréfaction est plus avancée, ils résistent beaucoup plus longtemps. Il faudrait en déduire, continuent-ils, que les déjections cholériques mêlées à des matières putrides en état de putréfaction très avancée, par exemple, des eaux d'égout, peuvent rester vivantes longtemps et devenir ainsi une source d'infection.

La distinction qu'établissent les auteurs entre les différents degrés de la putréfaction est certainement utile et empêchera les hygiénistes d'accorder une confiance peut-être exagérée à la putréfaction, comme agent destructeur des germes du choléra et du typhus.

E. F.

Dr Alfred Lingard. — **Contribution à l'étude de la vaccination contre le charbon** (*Fortschritte der Medicin*, VII, n° 8, 293).

Dans ce mémoire, l'auteur communique un certain nombre de faits très importants pour la théorie de la vaccination charbonneuse, et de nature à jeter aussi un certain jour sur la loi dite de Colles. On sait que, d'après cette loi, un nouveau-né, affecté de syphilis héréditaire, peut être impunément allaité par sa mère, sans qu'on voie jamais survenir d'ulcérations spécifiques aux mamelons, alors même que l'enfant a des lésions virulentes aux lèvres, et qu'il est capable d'infecter une nourrice étrangère. Or, M. Lingard a retrouvé un fait analogue avec le charbon. Il résulte, en effet, de ses expériences, qu'on peut, en inoculant cette maladie directement au fœtus contenu dans l'utérus d'une lapine vivante, faire périr le fœtus, sans que la maladie bacillaire passe à la mère. On ne retrouve alors de bacilles dans son sang à aucun moment, ni à l'examen microscopique, ni par la culture, et la mère acquiert, au contraire, une immunité parfaite, qui durait encore huit mois plus tard. Pour que la mère acquière l'immunité, l'inoculation du fœtus doit précéder d'au moins 36 heures la naissance, moment après lequel la mère résiste à l'infection avec du sang charbonneux virulent. Même les autres fœtus qui se trouvent dans l'utérus avec le fœtus inoculé et qui arrivent à terme, peuvent avoir acquis l'immunité, mais pour cela l'inoculation doit avoir précédé la naissance d'au moins 6 jours.

Il arrive cependant quelquefois que l'inoculation de fœtus entraîne la mort de la mère. Ceci arrive quand l'inoculation a été accompagnée de lésions accidentelles, et dans les cas où les bacilles parviennent à pénétrer du fœtus dans le système circulatoire de la mère. On peut alors, sur les coupes du placenta, suivre la marche des bacilles des vaisseaux fœtaux jusque dans ceux de la mère. Dans les cas, par contre, où la mère a acquis l'immunité, on ne les retrouve, sur les coupes, que dans les vaisseaux fœtaux.

E. F.

Dr Camille Golgi. — **Sur le prétendu « bacille de la malaria » de Klebs, Tommasi-Crudeli et Schiavuzzi** (*Archivio per la scienze mediche*, XIII, 1, p. 93).

Aujourd'hui, la plupart des auteurs sont portés à admettre comme prouvée l'existence du *Plasmodium malariæ*, découvert

par Laveran, et l'on ne croit plus guère au *Bacillus malariæ* que MM. Klebs et Tommasi-Crudeli avaient considéré comme la cause de la *malaria*. Le Dr Schiavuzzi, toutefois, qui l'a retrouvé dans l'air de districts où sévissait cette maladie, ne l'a pas abandonné, et il a même publié, il y a un an, un nouveau mémoire, dans lequel il cherche à établir que ce bacille est bien réellement l'agent de la maladie en question. Pour cela il se fonde :

1. Sur ce que, inoculé aux lapins d'expérience, il leur communiquerait une fièvre semblable à celle observée chez l'homme.

2. Sur ce que les diverses formes du parasite de Laveran ne seraient pas autre chose que de simples altérations des globules sanguins que l'on retrouverait également chez les animaux inoculés.

M. Golgi, qui s'est procuré des cultures authentiques du *Bacillus malariæ*, a repris les expériences du Dr Schiavuzzi, et est arrivé à des conclusions absolument contraires dans le travail que nous citons. M. Golgi démontre d'abord que les courbes thermiques, relevées par le Dr Schiavuzzi chez ses animaux d'expérience, n'ont rien de caractéristique. On retrouve, en effet, les mêmes élévations et diminutions de température chez des lapins inoculés avec des microbes inoffensifs et même chez des lapins sains auxquels on n'a rien inoculé du tout, assertions que M. Golgi appuie par de nombreuses courbes.

Quant aux altérations du sang produites par ce bacille et que l'on aurait prises à tort, d'après M. Schiavuzzi, pour un microorganisme spécial, M. Golgi montre qu'elles diffèrent absolument des formes évolutives que présente le parasite découvert par Laveran et étudié soigneusement par MM. Marchiafava et Celli, et l'auteur. Il en est de même des altérations du sang, que l'on peut produire artificiellement, ainsi que l'ont fait MM. Mosso et Maragliano. On se rappelle que ceux-ci avaient trouvé dans du sang resté 3 jours dans la cavité abdominale d'une poule, ou simplement enfermé dans de la paraffine, des altérations correspondant, selon eux, aux différentes formes du *Plasmodium malariæ*. Là, aussi, l'auteur montre qu'il existe des différences très nettes entre ces altérations et le vrai parasite de la malaria. M. Golgi conclut donc de ses expériences que le prétendu *Bacillus malariæ* de Klebs, Tommasi-Crudeli et Schiavuzzi n'a rien à voir dans l'infection paludéenne.

E. F.

Dr C. Fraenkel. — **Expériences sur la désinfection des puits et la teneur en germes de l'eau de la nappe souterraine** (*Zeitschrift für Hygiene*, VI, 1, p. 23).

La question de la désinfection des puits contaminés, par exemple, par un apport de microbes pathogènes n'a, croyons-nous, pas encore été étudiée au moyen des méthodes récentes de la bactériologie ; aussi, le mémoire de M. Fraenkel présente-t-il un grand intérêt pratique. L'auteur commence par nous donner quelques renseignements sur le mode de construction des fontaines, un facteur évidemment important dans cette question. Les fontaines proprement dites (les citernes servant à recueillir l'eau de pluie sont ici exclues) sont alimentées par la nappe d'eau souterraine et se divisent en deux catégories principales : les puits tubulaires ou forés et les puits maçonnés. Dans ceux-ci, la communication s'établit avec la région aquifère au moyen d'un grand bassin dont les parois sont en briques et cimentées avec une matière poreuse ou simplement avec de la mousse pour que l'eau pénètre aussi par les côtés de la cheminée. Le fond n'est pas pavé et c'est par celui-ci qu'arrive la majeure partie de l'eau. L'eau qui s'accumule dans le réservoir est alors puisée avec des sceaux ou pompée au moyen d'appareils spéciaux. L'ouverture de ces puits est ou bien exposée à l'air libre, ou bien protégée par un couvercle quelconque. Dans les puits tubulaires le réservoir est supprimé et remplacé par un tuyau de fer qui plonge dans le terrain traversé par la nappe souterraine et dont le bout inférieur, long d'environ 1 m., sert à l'aspiration de l'eau; pour faciliter celle-ci, il est percé de trous larges d'un demi-pouce, que l'on recouvre d'une toile métallique pour empêcher qu'ils ne se bouchent. L'aspiration se fait au moyen d'une pompe. Comme on le voit, ces derniers sont beaucoup mieux garantis contre les chances d'infection, car les puits maçonnés présentent, d'une part, une plus large ouverture dans laquelle les matières infectieuses peuvent tomber directement, et, d'autre part, le revêtement de maçonnerie est rarement sans présenter des fissures par lesquelles les impuretés répandues sur la terre avoisinante peuvent pénétrer latéralement. Si le danger d'infection par en haut est donc différent, selon le mode de construction des puits, il est, par contre, le même à l'égard d'une infection venant d'en bas, c'est-à-dire de la nappe souterraine même. La question de la désinfection se trouve donc en corrélation étroite avec celle de la pureté de l'eau de la nappe souterraine, sur laquelle l'accord n'est pas encore établi d'une façon complète. Ainsi, tandis que M. Wolffügel a constamment trouvé un nombre plus ou moins grand de micro-

organismes dans l'eau alimentant les puits et même dans l'eau de source, d'autres auteurs, parmi lesquels M. Fraenkel aurait bien fait de ne pas oublier MM. Pasteur et Miquel, prouvent, par leurs expériences, que l'eau se débarrasse par la filtration à travers un terrain réunissant les conditions nécessaires, de tous les germes qu'elle contient et ressort de terre entièrement pure.

Les premières expériences de M. Fraenkel furent consacrées à éclaircir ce point. De l'eau puisée dans 2 puits tubulaires, situés dans la cour de l'Institut hygiénique de Berlin, se montra, contrairement à son attente, assez riche en germes, même en prenant la précaution de pomper de grandes quantités d'eau pendant 3 jours, de façon à laver les tuyaux et à amener de l'eau n'ayant fait que traverser ceux-ci. Disons, pour citer quelques chiffres, que l'eau contenant au début 10,800 germes par cmc, en renfermait 7,200 pour le second litre, 560 pour le 50e, 454 pour le 100e, 120 pour le 200e, et 54 pour le 500e litre. Le second et le troisième jour, cette proportion était restée la même. Bien que l'eau accusât donc une teneur constante en germes, leur plus grande quantité au moment où l'on commençait à puiser l'eau, et leur diminution graduelle à mesure que cette opération se prolongeait, semblait indiquer que la source d'infection était, non dans l'eau même, mais dans les tuyaux. M. Fraenkel chercha donc à stériliser ceux-ci. Un nettoyage mécanique énergique fut institué, on désinfecta le piston après l'avoir dévissé, en le plongeant pendant 2 heures dans une solution d'acide phénique; et, pour stériliser le tuyau, on y versa 12 litres de la solution à 5 °/₀ d'un mélange d'acide phénique et d'acide sulfurique (Laplace). Au bout d'une demi-heure, le contenu du tuyau fut pompé, et la fontaine abandonnée à elle-même jusqu'au lendemain. L'eau en fut alors examinée. L'eau du premier litre, analysé chimiquement, donna la réaction du phénol (avec la solution de perchlorure de fer). Dans le 100e et dans le 500e litre il n'y en avait plus trace. Toutes les plaques faites avec 1 cmc d'eau restèrent inféconde, il en fut de même pendant les 7 jours suivants. Le 8e jour, on trouva 1.400 colonies par cmc dans le premier litre, mais rien dans le 100e ni dans le 500e. Un jour plus tard on en retrouva, comme au début, une trentaine environ dans le 500e litre. L'expérience fut reprise tant avec cette fontaine qu'avec une seconde, et les résultats furent en tous points semblables. L'eau restait stérile pendant plusieurs jours, et ce n'est que peu à peu que l'infection gagnait progressivement du terrain. On pourrait peut-être objeter que la stérilité de l'eau tenait à la petite quantité d'acide phénique qu'elle pouvait encore contenir les premiers temps après l'opération et non à la désinfection des tuyaux. Mais

M. Fraenkel répond à ceci en montrant par des expériences précises que cette eau constitue un excellent terrain nutritif; d'ailleurs la rapide disparition de la réaction phéniquée et le fait que l'infection réapparaît tout à fait graduellement, montrent bien qu'il s'agit d'une infection fortuite procédant par le tuyau. Quelques microbes se déposent sur les parois et y forment des colonies fortement adhérentes qui deviennent ainsi une source constante d'infection. D'ailleurs, dans une autre expérience où l'eau était restée stérile quelques jours, et où les germes commençaient de nouveau à se montrer, M. Fraenkel procéda à une seconde désinfection purement mécanique, en employant la brosse seule. Le premier litre puisé ensuite accusa un nombre innombrable de microorganismes, le 100e 780 par cmc, tandis que le 500e était absolument stérile. A partir de ce jour, l'eau resta stérile encore pendant 4 jours. Ce fait prouve clairement que l'infection provenait, dans ce cas, du tuyau.

En variant les proportions des solutions désinfectantes, en versant, par exemple, au lieu de 12 litres d'une solution à 5 °/₀, 2 litres de la solution concentrée, l'auteur obtint également une bonne désinfection, mais l'eau conserva alors, pendant plusieurs jours, un goût phéniqué, bien que l'analyse chimique n'en révélât plus aucune trace.

Ces expériences ont donc un double résultat : elles démontrent d'abord la pureté de l'eau provenant directement de la nappe souterraine, et cela dans une ville, sur un terrain recouvert pendant des siècles avec des détritus de toute sorte, où la nappe souterraine avait donc eu toutes les chances d'être infectée si la terre n'eût constitué un filtre parfait ; ensuite, elles montrent la possibilité de désinfecter à fond les puits tubulaires. Pour rendre l'expérience plus probante, M. Fraenkel infecta aussi la fontaine artificiellement en y versant d'abord des spores très résistantes (*Bacillus subtilis*) et d'autres microbes facilement reconnaissables à l'apparence de leurs colonies. La désinfection, instituée comme il a été dit plus haut (avec 2 litres de la solution concentrée), réussit parfaitement et donna les mêmes résultats.

Appliqué aux puits maçonnés, par contre, ce procédé de stérilisation donna des résultats fort peu encourageants, même en employant 10 litres de la solution concentrée. L'eau accumulée dans le réservoir est, il est vrai, momentanément stérilisée, mais le liquide désinfectant ne pénètre pas dans les couches profondes de la boue déposée au fond et toujours très riche en germes, et l'eau nouvelle, que la pompe fait venir et qui a traversé ces couches, se montre de nouveau extrêmement fertile. En outre, il est difficile de faire disparaître l'acide phénique du réservoir et il communique

un goût désagréable à l'eau pendant longtemps. Des essais de désinfection, faits au moyen de la chaux ne donnèrent par de meilleurs résultats.

E. F.

Dr S. Kitasato. — **Sur le bacille du charbon symptômatique et son procédé de culture** (*Zeitschrift für Hygiene*, VI, 1, p. 105).

Le bacille du charbon symptômatique est bien connu, surtout depuis le mémoire remarquable de MM. Arloing, Cornevin et Thomas, paru en 1879. Sa culture n'est cependant pas aisée, attendu que c'est un anaérobie absolu qui, de plus, paraît assez difficile quant au choix de sa nourriture.

Les auteurs sus-nommés ont cependant réussi à le cultiver à l'abri de l'air, dans de l'acide carbonique, et en ajoutant un peu de glycérine et de sulfate de fer aux bouillons (bouillon de poule) de culture. Leurs cultures étaient encore très-virulentes au bout de 12 générations; aussi, n'est-il guère possible, à notre avis, de partager au sujet de leur authenticité les doutes qu'émet M. Kitasato. Celui-ci, il est vrai, n'a pas réussi à le cultiver en suivant le procédé indiqué par les auteurs français; mais, comme on le verra par le résultat de ces expériences, il s'agit d'un microbe très-sensible à la moindre modification du milieu, et les échecs dont M. Kitasato rend la méthode de MM. Arloing, Cornevin et Thomas responsable, pourraient tenir simplement à de légères différences dans le mode de préparation, le degré de neutralisation, etc., etc., des bouillons employés. M. Kitasato a, également, constaté l'inaptitude absolue de ce bacille, à croître dans les milieux les plus divers en présence de l'oxygène. Il ne se développe alors dans les cultures que des microbes étrangers toujours nombreux, selon M. Kitasato, dans le liquide œdémateux des cobayes auxquels on a inoculé le charbon symptômatique. M. Kitasato eut alors l'idée d'employer un bouillon fait avec de la chair de cobaye, animal éminemment sensible à l'action pathogène du bacille du charbon symptômatique. Celui-ci y crût parfaitement, en faisant passer un courant d'hydrogène dans les bouillons de culture; l'acide carbonique, par contre, empêche son développement. Les cultures ne sont pas toujours pures au début; on y rencontre souvent un grand bacille et un bacille court formant des chaînes, qui se trouvent habituellement dans le liquide œdémateux servant à l'ensemencement. Il faut alors purifier la culture par la méthode des ensemencements

fractionnés, car ce bacille ne se cultive sur aucun milieu solide, ce qui empêche de l'isoler au moyen du système des plaques.

La température la plus favorable est celle de 35-38°. Le bouillon se trouble uniformément en 24 heures, puis on voit de petits flocons se former, qui finissent par tomber au fond du ballon. Le bouillon reprend alors sa limpidité, mais quand on secoue la culture, le dépôt se répartit uniformément dans le bouillon et le trouble. Il y a aussi productiou de gaz dans les cultures, avec formation d'écume, surtout sur les bords. L'odeur des cultures rappelle celle du beurre rance. A 22-25° degrés, la croissance est retardée ; au-dessous de 20°, il n'y a aucun développement. Dans du bouillon de bœuf frais les bacilles croissent bien ; mais, quand la viande n'est plus toute fraîche, sa réaction devient alors acide, le bouillon fait avec celle-ci, même neutralisé ou rendu alcalin, est inapte à les nourrir. La réaction la plus favorable serait, selon M. Kitasato, un léger degré d'acidité. Dans le bouillon frais de lapin, de veau et de poule, les bacilles croissent aussi, mais maigrement. Quand le bouillon de cobaye ou de bœuf est vieux d'un mois, sans que sa réaction (légèrement acide) ait changé pour cela, les bacilles refusent d'y croître.

La virulence des cultures se perd assez vite, et il faut procéder chaque semaine à un ensemencement dans du bouillon frais pour qu'elles restent actives.

Les bacilles sont droits ou ont la forme en massue décrite si souvent. Leur longueur est de 3-6 μ, leur largeur de 0,5-0,7 μ. Les bacilles droits sont mobiles, ceux qui ont pris la forme en massue, et dont la largeur dépasse alors les dimensions citées, ne se meuvent plus. Les bacilles résistent 3 semaines à la dessication (fils de soie plongés dans les cultures). M. Kitasato n'a pas encore pu établir d'une façon certaine l'existence de spores, elles semblent toutefois devoir exister, puisque la chair desséchée des animaux morts de cette maladie reste virulente pendant des années. Les cultures âgées de 2 semaines ne tuent plus les cobayes ; mais, ainsi que M. Kitasato a pu s'en convaincre par des expériences répétées, elles leur confèrent l'immunité. Les cultures chauffées 30 minutes à 80° sont tuées, mais confèrent aussi l'immunité. Le bouillon préparé avec la chair des cobayes vaccinés reste un bon milieu de culture, et l'auteur en conclut que l'immunité n'existe que dans le corps vivant. Les cobayes nés de mères vaccinées ont également acquis l'immunité.

E. F.

H. Buchner. — **Recherches sur l'absorption des microbes infectieux par les voies respiratoires** (*Archiv für Hygiene*, VIII, 2, p. 145-245, et *Centralbl. für Bacteriologie*, IV, p. 98).

La question de l'absorption des microbes infectieux par les voies respiratoires a déjà suscité de nombreux travaux. Niée par les uns (Wyssokowitsch, Flügge), la perméabilité du poumon pour les germes microbiens est, au contraire, affirmée par d'autres (Buchner, Muskatbluth). On se rappelle les résultats auxquels M. Buchner était arrivé dans ses premières expériences. Après avoir mélangé de spores charbonneuses des poudres fines et bien sèches de charbon de bois ou de talc, qu'il avait répandues en nuage dans une caisse renfermant les animaux d'expérience (souris blanches), il avait vu ceux-ci mourir du charbon quelques jours après l'inhalation. En même temps, pour parer à l'objection que l'infection aurait pu avoir été produite par des érosions à la surface de la peau et des muqueuses, ou par le canal intestinal, il avait saupoudré d'autres animaux avec des poussières infectieuses et constaté que ceux-ci étaient tous restés vivants, sauf un, comme également ceux auxquels il faisait avaler ces poussières restaient indemnes à moins que la quantité de spores ingérées n'eut été énorme.

La quantité des spores pulvérisées dans les expériences d'inhalation étant peu considérable, ceci prouvait, par voie d'exclusion, que l'infection s'était bien produite par la voie pulmonaire. M. Flügge ayant opposé à ses expériences de nouvelles recherches, entreprises sous sa direction, par M. Wyssokowitsch, desquelles il résulterait (les conclusions seules de ces recherches sont communiquées par M. Flügge dans la seconde édition de son livre *Sur les Microorganismes*) «avec toute certitude que ni la surface des poumons, ni celle des intestins ne permettent le passage des microbes dans le sang,» M. Buchner a repris, en collaboration avec MM. Merkel et Enderlen, ses précédentes expériences en les complétant de façon à fournir la preuve *directe* de l'absorption des microbes infectieux par le poumon.

Pour démontrer la perméabilité de la surface du poumon *intact*, M. Buchner a évité de se servir, dans ses expériences, de bactéries qui, comme le bacille de la tuberculose, trouvent dans le poumon un milieu d'élection et y causent des désordres primaires. Il s'en est donc tenu, comme précédemment, au bacille du charbon pour lequel le poumon ne saurait constituer qu'un lieu de passage. Deux méthodes furent employées, l'inhalation de poussières sèches et l'inhalation de liquides pulvérisés. Dans ce dernier cas, les animaux

n'étaient pas exposés directement au spray bactérien, mais celui-ci était amené d'abord dans un grand flacon dans lequel plonge un tube recourbé vers le haut et par lequel seule la partie la plus fine du jet est conduite, sous la forme d'un léger brouillard, dans les caisses d'inhalation où sont les animaux. Ce brouillard est tellement léger qu'il peut, sans perte de substance, traverser des tubes de plusieurs mètres de longueur. Il renferme cependant, ainsi que M. Buchner s'en est assuré, un nombre très considérable des bactéries contenues dans le liquide pulvérisé. De cette façon, celui-ci ne pénètre qu'en très petite quantité dans le poumon, car le brouillard ne représente que 1/2 °/₀ du liquide pulvérisé ; ainsi, en pulvérisant 40 ccm, le brouillard formé est de 0,2 ccm, soit 3 gouttes. Les animaux n'étaient soumis à l'inhalation qu'une seule fois, pour 30-45 minutes. La caisse d'inhalation dans laquelle se trouvaient toujours plusieurs animaux à la fois, de 3 à 10, était d'une contenance de 50 litres. Malgré ces conditions, plutôt peu favorables à une infection, les résultats furent très précis. Sur 140 animaux soumis aux inhalations (tant de poussières que de liquides pulvérisés), 96, soit 68,6 °/₀ succombèrent de 2 à 4 jours plus tard au charbon. A titre de contrôle, on fit avaler à 79 animaux les mêmes quantités de poussières ou de liquides dont on se servait pour les expériences. Ces derniers ingurgitèrent ainsi un nombre bien plus considérable de spores que celui que les animaux soumis aux inhalations auraient pu avaler fortuitement. Il n'en mourut cependant que 7, soit 8,9 °/₀.

Après avoir ainsi corroboré les résultats de ses précédentes recherches, M. Buchner chercha à fournir une preuve directe de l'infection par voie pulmonaire. Dans ce but, il sacrifia des animaux à différentes intervalles, après l'inhalation, afin de procéder à un examen bactériologique de leurs poumons. En ensemençant des parcelles de ceux-ci sur des plaques de gélatine il put constater qu'il contiennent de suite, après l'inhalation, un nombre plus ou moins considérable de germes charbonneux ; plus aussi les intervalles sont éloignées, plus leur nombre semble s'accroître. Mais le moyen le plus sûr de se convaincre que l'infection s'est produite par le poumon consiste dans l'examen des coupes de cet organe. La tâche est pénible, car les petits foyers de bacilles sont difficiles à trouver dans la période initiale de l'infection et il n'est pas non plus toujours facile de choisir le moment propice pour sacrifier les animaux, attendu que la maladie n'évolue pas dans chaque cas avec la même rapidité. Néanmoins, ainsi que le prouvent les figures qui accompagnent le travail de M. Buchner, on peut réussir à obtenir des préparations très convaincantes. Dans l'une, provenant d'une

souris tuée 20 heures après l'inhalation de poussières sèches, on voit en quelques endroits des foyers isolés de 20-25 bacilles charbonneux, soit sur, soit dans les parois des alvéoles. Les spores seules ayant été employées dans l'inhalation, il est certain que ce sont celles-ci qui, en germant, ont donné naissance aux bacilles là où elles ont été déposées. La position des bacilles qui ne se trouvent pas dans les capillaires et qui, par conséquent, ne peuvent pas avoir été amenés d'autre part, le montre clairement. D'ailleurs, le peu de temps qui s'est écoulé depuis l'inhalation et le fait que la rate, ainsi que le démontrent les essais de cultures, ne contient point de bacilles, parlent contre un pareil détour. A un endroit, du reste, on voit même sur le bord de l'alvéole un petit éclat de charbon qui a servi de véhicule à la spore. En outre, dans les cas d'infection par ingestion de grandes quantités de spores, la mort n'a lieu qu'au bout de 4 à 5 jours, tandis que dans les expériences d'inhalation elle se produit presque constamment le second ou le troisième jour. Cette disposition des bacilles par foyers isolés se rencontre encore dans une période plus avancée de l'infection. Ainsi, chez un cobaye sacrifié, 23 1/2 heures après l'infection les colonies de bacilles ne se voient que dans quelques endroits, et le reste du poumon est presque indemne. Mais ces foyers sont alors composés de centaines de bacilles et l'on trouve à ce moment déjà un grand nombre de bacilles à l'intérieur des capillaires du poumon ; la rate, toutefois, n'en renferme pas encore. Ces préparations démontrent ainsi, selon M. Buchner, les stades successifs du processus infectieux, depuis son commencement jusqu'à la production de l'infection générale, et donnent la preuve directe de la perméabilité du poumon pour les microbes infectieux. On peut seulement se demander comment se fait ce passage? Deux éventualités sont ici possibles. Ou bien les bacilles passent par les voies lymphatiques, ou bien ils traversent directement les parois des capillaires. Or, tout, dans ces expériences, parle en faveur de cette dernière voie. L'intervalle entre le moment où l'on constate les premiers petits foyers extra-capillaires jusqu'à l'apparition des foyers plus volumineux et en partie déjà intra-capillaires, est trop peu considérable pour que l'on puisse admettre que les bacilles aient eu le temps de passer des voies lymphatiques dans les glandes lymphatiques et dans le sang pour aller, de là, former de nouvelles colonies dans le poumon.

M. Buchner s'explique le passage des bacilles au travers des parois des capillaires, en admettant qu'ils croissent dans les interstices qui se forment dans les parois sous l'influence du processus irritatif, interstices qui livrent aussi passage aux leucocytes dans

les inflammations. On aurait ainsi à se représenter le passage des bacilles par la surface intacte du poumon comme un processus *actif*. Avec ce caractère *actif* du passage coïnciderait le fait que plus l'irritation du parenchyme pulmonaire est grande, plus aussi les chances du passage des bactéries diminuent. Ainsi, en faisant inhaler, non pas des spores, mais des bâtonnets, la mort se produit aussi en 36-48 heures ; mais au lieu de trouver les poumons sains comme dans l'inhalation de spores, on constate une pneumonie séro-fibrineuse hémorrhagique des plus violentes. Les alvéoles sont remplies d'exsudat fibrineux et de véritables pelotes de filaments de bactéridies. Malgré l'infection énorme du poumon, l'infection générale est cependant encore peu avancée, et la rate ne contient encore que peu de bacilles. Ces différences s'expliqueraient, d'après M. Buchner, ainsi : tandis que les spores n'exercent par elle-mêmes aucune action chimique irritante et ne se développent que lentement et successivement en des endroits isolés sans produire une irritation générale trop forte, les bacilles adultes amenés en en grandes quantités au contact de la surface du poumon y déterminent immédiatement, par leur croissance et leurs réactions chimiques, une irritation générale intense, suivie d'une vive réaction. Ainsi, l'inhalation de spores provoquerait rapidement l'infection générale, sans affection locale notable, tandis que l'inhalation de bacilles causerait une affection locale intense, suivie d'une infection générale retardée et légère. Ceci expliquerait les résultats négatifs de MM. Flügge et Wyssokowitsch et de M. Hildebrandt, qui sont partis de l'idée que l'état irritatif du parenchyme pulmonaire était indifférent ou qu'il favorisait même le passage des microbes infectieux.

Quels sont maintenant les agents infectieux qualifiés pour traverser la surface intacte du poumon ? Avant tout, les parasites du sang, nous répond M. Buchner, attendu qu'ils ont seuls les qualités requises pour traverser les vides des parois capillaires et arriver dans le sang vivant. Les autres espèces microbiennes par contre, sont exclues de ce mode d'infection. Conformément à cette vue théorique, les expériences faites avec les bacilles du charbon, du choléra des poules, de la septicémie des lapins et du rouget des porcs, qui sont tous, pour l'animal, des parasites sanguins, donnèrent des résultats positifs dans les expériences d'inhalation.

Pour l'espèce humaine, on pourrait ranger parmi les parasites sanguins les spirilles de la fièvre récurrente et les plasmodies de la malaria. Dans ces deux cas, par conséquent, une infection par la voie pulmonaire devrait être considérée comme possible. Les bacilles de la turberculose et de la morve, en revanche, ne sont pas des

parasites sanguins, et il ne peut être question de leur passage au travers des parois des capillaires ; aussi l'inhalation des bacilles de la tuberculose ne donne-t-elle pas lieu, de prime abord, à une infection générale, mais à des localisations primaires dans le poumon, auxquelles se joignent secondairement des localisations dans les organes internes. Quant aux autres microorganismes pathogènes qui ne font pas, comme ces derniers, du poumon un lieu d'élection et qui n'étant pas non plus des parasites sanguins, ne sont pas capables de passer directement dans les vaisseaux sanguins du poumon, tels que le micrococcus de l'érysipèle, les microbes pyogènes, etc., etc., M. Buchner pense que leur passage pourrait se faire peut-être peu à peu par les voies lymphatiques.

E. F.

GOSTA GROTENFELT. — **Sur la fermentation lactique provoquée par des levûres** (*Fortschritte der Medicin,* 1889, 4, p. 131).

M. Duclaux a décrit le premier, il y a un an environ (*Annales de l'Institut Pasteur,* I, 573) une levûre pouvant provoquer la fermentation alcoolique du sucre du lait. A cette levûre, à laquelle il donne le nom de *Saccharomyces lactis*, M. Grotenfelt en ajoute une seconde, le *Saccharomyces acidi lactici*, qui produit également une fermentation lactique et qui, comme le précédent, forme des ascospores quand on le cultive sur la pomme de terre. Il se distingue du *S. lactis* par la forme de ces cultures. Dans la gélatine' on voit sur les bords de la piqûre d'inoculation des ramifications latérales en forme de massues qui s'étendent dans la gélatine, et qui manquent dans les cultures du *S. lactis.* Leurs effets sont aussi un peu différents. Le *S. lactis* de Duclaux produit surtout une fermentation alcoolique du sucre du lait et ne forme pas assez d'acide pour coaguler le lait; le *S. acidi lactici,* au contraire, produit moins d'alcool, mais l'acide qu'il forme provoque une coagulation du lait aussi intense que celle que causent les bactéries.

E. F.

L'Éditeur-Gérant :
GEORGES CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

SUR UNE NOUVELLE ESPÈCE DE MICROBE CHROMOGÈNE

LE *BACTERIUM ROSACEUM METALLOIDES (Suite)*

PAR

G. F. DOWDESWELL, M. A.

Membre de la Société Linnéenne et de la Société Royale micrographique de Londres

Morphologie *(Suite)*

Structure intime des cellules.

Dans les formes les plus grandes et les plus faciles à examiner, telles que celles qui se trouvent, par exemple, dans une infusion de pois après un développement de 48 heures, à 15° c., l'on observe aisément que le plasma des cellules actives en bâtonnets, dans les conditions naturelles, n'est point homogène, mais agrégé en différents points de leurs masses. Ce détail est encore plus visible dans les préparations modérément colorées et présente l'apparence d'une vacuolisation et, à proprement parler, ce sont probablement de véritables vacuoles, c'est-à-dire des portions dépourvues de plasma. Dans les cultures plus âgées de quelques jours, et chez les cellules adultes, le protoplasma tend à se distribuer plus régulièrement et à se réunir à l'une ou à chacune des extrémités du bâtonnet. C'est là un processus préparatoire de la fissiparité par laquelle se forment deux cellules filles qui, à leur tour, se divisent de la même manière; mais, après quelques jours de culture dans un tube,

les cellules diminuent de dimension en même temps que s'appauvrit le milieu nutritif, et leur structure intime se laisse moins facilement observer, ainsi que cela arrive pour les cellules toujours plus petites des cultures sur milieu solide. L'on voit nettement ce phénomène dans le dessin (Pl. IV en C') fait d'après une photomicrographie et, dans certains cas, comme dans celui du spirillum du choléra asiatique, elle a été prise à tort pour une formation de spores.

La structure de la paroi cellulaire de ce microbe est très difficile à mettre en évidence. On l'aperçoit seulement dans la portion vacuolaire de la cellule où apparaît son double contour; mais la ligne intérieure de démarcation, qui probablement est moins régulière et moins nettement limitée que la ligne extérieure, se distingue moins aisément.

La présence d'un flagellum est un caractère très important pour la morphologie des schizophytes. Cet organe est assez difficile à rendre apparent chez le *Bacterium rosaceum metalloïdes;* il est extrêmement mince, relativement à celui des autres espèces. Le flagellum du *Spirillum cholera asiaticœ* est, il est vrai, d'une minceur encore plus grande que celui du microbe qui nous occupe ici; mais, chez lui, ce cil se voit facilement sans moyens particuliers et peut même être dessiné sans dificulté à l'aide de la chambre claire, ainsi que je l'ai fait, et bien que cela soit controversé par de récentes observations. Je reviendrai un jour sur cette question du flagellum chez ces microbes (1).

---

(1) Qu'il me soit permis de dire encore un mot des nouveaux objectifs appelés apochromatiques. L'espérance conçue par quelques-uns qu'ils pourraient révéler ou résoudre des structures, auparavant invisibles, me paraît avoir été nettement déçue, et je crois que l'on peut admettre que le pouvoir de résolution du microscope a atteint ses plus extrêmes limites, et que les objets dont la dimension n'est qu'une fraction de la longueur des ondes lumineuses ne peuvent être rendus par la lumière sous leur vraie forme. Les objectifs apochromatiques sont achromatisés d'une manière plus parfaite que les lentilles des anciennes formules, et ils supportent des oculaires beaucoup plus forts. La première de ces deux qualités est excellente pour la photographie, mais je doute fort que, pour d'autres usages ils présentent, *à égalité d'angle d'ouverture,* aucun avantage réel en définition ou résolution sur les objectifs des anciennes formules. Tous les micrographes ont reconnu depuis longtemps que la *résolution* n'est

Anaérobiose

Bien que ce microbe présente une grande avidité pour l'oxygène, il peut, comme beaucoup d'autres êtres de la même classe, se développer dans des conditions où l'air fait à peu près complètement défaut. D'après une de mes dernières observations, j'ai trouvé qu'il se développait dans du bouillon contenu dans des tubes capillaires scellés aussi privés d'air que possible. Dans la masse du liquide, la colonie est incolore; à la surface en contact avec le vide ou plutôt, comme cela est probable, au contact de la petite portion d'air restante, elle présente une coloration distincte. Inoculé dans des œufs qui sont hermétiquement clos, le microbe se développe aisément dans l'albumine mais sans coloration aucune. Son développement dans le jaune est moins rapide, mais là il présente une coloration nette, due sans doute à la composition différente de la substance vitelline. Il semble impossible qu'il trouve là d'autre oxygène que celui qu'il extrait de son milieu nutritif.

Action des germicides

L'action des germicides et des antiseptiques sur un microbe chromogène n'a pas la même importance que s'il s'agissait d'une forme pathogène; elle a néanmoins une

---

qu'une fonction de l'ouverture, qu'elle lui est strictement proportionnelle et que cette relation peut être l'objet d'une expression mathématique (professeur Abbe). Il semble donc également clair que *résolution* et *définition* sont synonymes. La construction perfectionnée des nouveaux *oculaires* est certainement d'une grande valeur; plus importante encore est l'attention accordée au condensateur et à la disposition de l'éclairage. L'ouverture numérique des nouveaux objectifs forts, construits par les meilleurs fabricants, est généralement de 1,40, résultat que n'avaient point atteint auparavant la plupart des constructeurs de microscopes, et leurs qualités sont surtout dues à cette augmentation d'ouverture. Cette ouverture, cependant, de même que leur parfait achromatisme, ne servent absolument à rien si le condensateur n'est point également achromatique et ne présente pas un angle d'ouverture égal à celui de l'objectif. C'est un point qui semble avoir échappé à l'attention de maints micrographes, bien qu'on puisse cependant le démontrer expérimentalement de la manière la plus aisée.

certaine valeur, en ce sens qu'elle indique les propriétés vitales de l'organisme comparativement à celles des autres organismes.

La distinction essentielle entre ces deux classes germicides et antiseptiques est maintenant clairement établie ; les recherches, dans ce champ réellement inépuisable, sont presqu'innombrables ; en Allemagne, celles de Koch, celles de Klein, en Angleterre, sont les plus connues, tandis qu'en Amérique le travail rigoureux et considérable du Dr G. M. Sternberg (1) est un modèle de ce genre de recherches. Ces travaux sont encore plus nombreux en France. Nous devons l'une des plus anciennes et des plus exactes recherches, concernant l'action des germicides sur un microbe pathogène, à feu le Dr Davaine (2), et enfin au Dr Miquel, qui a si honorablement attaché son nom, aux travaux les plus récents et les plus concluants sur les antiseptiques considérés au point de vue des organismes de la putréfaction et de la contamination par l'air. Enfin, le sujet a été traité dans son ensemble, et d'une façon magistrale, par M. Vallin, dans son ouvrage bien connu et fort bien fait, le *Traité des désinfectants*, qui est généralement reconnu comme le manuel classique du sujet.

Mes expériences, dans cet ordre d'idées, ont eu surtout pour but de montrer l'action de quelques germicides bien connus sur le microbe qui fait l'objet de ce mémoire en suivant la méthode pratiquée, je crois pour la première fois, par M. Davaine (*loc. cit.*) et qui consiste à se servir de solutions aqueuses de la substance à essayer et de soumettre pendant un certain temps le microbe à son action. Pour une recherche *exacte* sur l'action toxique ou germicide actuelle d'une substance, cette méthode me paraît indiscutablement la meilleure, et en réalité la seule appropriée au but *pratique* qui est généralement celui de connaître son action *antiseptique* ou *protectrice*. L'on recommande habituellement d'employer un milieu dans lequel le microbe puisse se développer, mais

---

(1) *Rapport au conseil national de santé*. Washington, U. S. A. 1879.

(2) *Loc. cit.*

cette méthode présente l'inconvénient qu'avec maintes substances, telles que les sels de mercure, le phénol, qui forment, avec les albuminoïdes, un précipité plus ou moins insoluble, l'action de la substance variera avec la composition du liquide, c'est-à-dire avec la proportion d'albumine qu'il contiendra ; les différentes expériences dans ces milieux seront donc difficilement comparables entre elles.

Technique expérimentale. — J'ai commencé par essayer l'action de l'eau distillée et de l'eau de source, ainsi que celle de la solution normale de sel, et j'ai trouvé, comme on l'avait déjà constaté pour d'autres microbes, que, l'immersion dans ces liquides, pendant 24 ou même 48 heures, n'avait aucun pouvoir toxique ou nuisible sur la puissance de reproduction du *B. ros. metalloïdes*.

J'ai toujours opéré de la façon suivante : dans un tube à essai stérilisé et bouché par un tampon d'ouate, je mettais 4 c. cubes d'une solution aqueuse de la substance à essayer et j'inoculais ensuite ce tube avec 3 gouttelettes (environ 0,04 c. cubes) recueillies au moyen d'une pipette capillaire dans une culture, active et âgée au plus de 3 jours, du microbe dans une infusion de pois. Après un temps donné, 2 heures dans le cas présent, des tubes contenant chacun 2 c. cubes d'une infusion de pois étaient inoculés avec 2 gouttelettes de chacune des solutions additionnées d'agents chimiques. On attendait le résultat, et l'on contrôlait l'expérience au moyen de semis d'inoculations faites concurremment avec de l'eau pure inoculée de la même façon que les solutions chimiques. Le développement du microbe, et par conséquent la preuve de sa vitalité était démontrée par le trouble de l'infusion. Si celle-ci se colorait au bout de peu de jours, et demeurait exempte de pellicule, l'on considérait comme évidente la preuve du développement du microbe spécifique. Si aucune coloration n'apparaissait, fait qui se produisait pourtant presque chaque fois, l'on mettait en évidence le développement par l'inoculation à la surface d'une pomme de terre cuite et stérilisée qui, jointe à l'examen microscopique démontrait alors le caractère du microbe développé dans la culture.

Je puis ajouter ici que, bien que ces expériences aient été faites dans un endroit éloigné de tout laboratoire bac-

tériologique ou autre, les contaminations par les schizophytes étrangers ont été, en réalité, fort rares et presqu'entièrement nulles. Par contre, cependant, l'on observait souvent, dans les cultures, des moisissures aux champignons filamenteux; mais, pour si incommode que fût leur présence, elle se manifestait facilement à l'œil nu et, par conséquent, ne pouvait entraîner d'erreurs bien sérieuses.

Je n'ai pas pensé qu'il fut utile d'étudier l'action des antiseptiques proprement dits sur ce microbe. Voici, d'ailleurs, brièvement résumés, les résultats de mes recherches.

Série I *(Tableau 1)*

1, 2 et 3 (contrôle). Eau distillée pure : pas d'action toxique.

4. Bichlorure de mercure : 1 p. 5.000, 1 p. 10.000, 1 p. 100.000, toxique, pas de développement.

4 *bis.* Bichlorure de mercure : 1 p. 5.000, 1 p. 10.000, 1 p. 100.000, toxique, pas de développement.

5. Alcool : 10 p. 100, toxique; 25 p. 100, non toxique; 50 p. 100, toxique (résultat anormal).

6. Ether sulfurique : 2 p. 100, non toxique; 5 p. 100, non toxique; 10 p. 100, toxique.

7. Chloroforme, solution aqueuse saturée : pas d'action toxique.

8. Acide chlorhydrique : 1 p. 100, toxique; 0,5 p. 100, toxique.

9. Glycérine : 10 p. 100, 50 p. 100 et pure, pas d'action toxique ou nuisible, même après deux jours de contact.

10. Phénol : 1 p. 100 et 2 p. 100, pas d'action toxique; 5 p. 100, action appréciable, développement retardé.

Série II *(Tableau II)*

1 et 2 (contrôle). Eau distillée pure : pas d'action toxique ou nuisible.

3. Bichlorure de mercure : 1 p. 50.000, 1 p. 50.000 (2), 1 p. 100.000, 1 p. 250.000, 1 p. 500.000, toxiques, pas de développement; 1 p. 1.000.000, 1 p. 1.000.000 (2), 1 p. 2.000.000, pas d'action toxique, développement normal.

L'action du bichlorure de mercure sur le *Micrococcus*

prodigiosus a été exactement identique. Les solutions à 1 p. 50.000, 1 p. 100.000, 1 p. 250.000, 1 p. 500.000, étaient toxiques; celles à 1 p. 1.000.000, 1 p. 2.000.000, ne l'étaient pas.

Pous essayer l'action du sublimé dans un liquide albumineux, j'ai traité, de la même manière que les tubes précédents, d'autres tubes contenant 4 c. cubes de bouillon selon la formule ordinaire, de densité égale à 1,001, avec les proportions suivantes de bichlorure de mercure :

$HgCl^2$. 1 p. 5.000, 1 p. 10.000, 1 p. 50.000, 1 p. 100.000, et des inoculations subséquentes montrèrent que le sel, ajouté au bouillon dans ces proportions, n'avait aucune action toxique. Ces expériences furent menées en même temps que celles du tableau II, et au moyen des mêmes cultures; elles montrent combien l'action germicide du sublimé est moindre dans le bouillon que l'eau distillée, mais il faut se borner à penser que dans les liquides albuminoïdes, comme je l'ai dit plus haut, son action varie avec la concentration de la solution.

Chromatologie.

Caractères du pigment. — Comme je l'ai déjà mentionné, le développement du pigment varie quelque peu de teinte et d'intensité, et les conditions de ces variations sont loin d'être simples; elles sont cependant moins variables et moins incertaines que dans le cas du *Micrococcus prodigiosus* qui a été l'objet d'une admirable monographie du Dr Schottelius (Freiburg 1887), que je viens de recevoir, et qui a pour but de démontrer la variabilité de la fonction chromogène chez ce microbe. Mes propres observations faites quelques années auparavant, et restées dans mes cartons, concordent avec les siennes en ce qui concerne les points les plus essentiels.

1. *Caractères physiques.* — Si l'on prend à la surface d'une culture sur gélatine nutritive ou tout autre milieu solide une colonie fortement colorée, si on la mélange à un liquide indifférent, pour l'observer au microscope, l'on voit que de rares microbes sont fortement colorés, paraissent même presque noirs, mais que la plus grande

partie d'entre eux est incolore (1). L'on peut voir aussi en nombre variable, des gouttelettes, des globules ou particules, formées probablement du même pigment que celui des cellules du microbe (2), et résultant sans doute de la coalescence des sécrétions de quelques cellules isolées et, comme les plus petites particules, sont généralement arrondies et toutes sont fortement réfringentes quand elles ne paraissent pas opaques. Le meilleur grossissement pour cette étude est celui de 7 à 800 diamètres. Dans les cultures dans le bouillon, l'infusion de pois ou tout autre milieu liquide, l'on peut observer les mêmes apparences, mais pas aussi nettement que dans une culture sur milieu solide correspondant à la meilleure coloration des premières cultures.

Bien que le pigment paraisse presqu'insoluble dans l'eau froide et dans l'eau bouillante, il semble être cependant partiellement soluble dans les cultures du bouillon ou autre milieu liquide, car j'ai remarqué que des particules de substances étrangères, telles que des tissus animaux ou végétaux qui se trouvent dans les cultures se colorent sous son action. Le *Micrococcus prodigiosus* se trouve certainement dans le même cas, car il colore les milieux de culture plus fortement et plus constamment que le microbe qui nous occupe en ce moment, et, à ce point de vue, je puis confirmer les observations du Dr Schroeter (*Loc. cit. supra*, p. 114). Cette circonstance montre l'impossibilité d'assumer une relation génétique entre les différentes formes de ces schizomycètes trouvées dans les mêmes cultures en tenant compte de l'identité de coloration. C'est ainsi qu'une fois j'ai trouvé dans une culture de *M. prodigiosus* quelques hyphes d'un *mycelium* segmenté colorés en rose rouge. Il y avait là contamination accidentelle par un organisme d'une taille relativement gigantesque et si différent par ses caractères du *M. prodigiosus* que le plus ardent avocat de l'hétérogénie ou des espèces protées ne se serait point avisé

(1) Je dois dire que je fais abstraction de l'apparence foncée des corps fortement réfringents sous le microscope quand ils sortent un peu du foyer.

(2) Le même fait a été décrit par le Dr Schottelius (l. c., p. 190).

de trouver entre ces deux formes une relation génétique. Quand je voulus l'isoler, néanmoins, il mourut, et il me fut impossible avec l'une ou l'autre de ces espèces de microbes, par l'introduction voulue d'organismes étrangers dans leurs cultures, d'élucider la question de leur coloration par le pigment.

2. *Propriétés chimiques.* — Le pigment formé par une culture sur milieu solide est d'un rouge rose foncé, présentant souvent sur place un reflet métallique. Il est presqu'insoluble dans l'eau froide et dans l'eau bouillante, complètement soluble, par digestion, dans l'alcool et très facilement soluble dans l'alcool bouillant. L'extrait est d'une couleur rouge orange, qui devient rose foncé par l'addition d'un peu d'eau, de quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène, ou par l'exposition à l'air, sur un papier filtre, par exemple. Sa réaction est complètement neutre. Il est en outre :

Absolument insoluble dans le chloroforme.
Insoluble dans l'acide sulfurique concentré, sa couleur fonce.
Insoluble et inaltérable dans l'acide sulfurique dilué.
Insoluble, mais passant au brun terreux, dans l'acide nitrique dilué à 33 p. °/₀.
Insoluble et inaltérable dans l'acide chlorhydrique dilué à 33 p. °/₀.
Insoluble et inaltérable dans l'acide acétique. La solution alcoolique passe au rose rouge.
Insoluble et passant au brun terreux dans une solution de soude (Na HO) 33 p. °/₀. La solution alcoolique devient incolore.
Devient rouge brun sous l'action du sulfhydrate d'ammoniaque. La solution alcoolique se comporte de même.
Insoluble et inaltérable dans la glycérine.
Insoluble dans la térébenthine, mais la couleur fonce sur place.
Insoluble et inaltérable dans le benzol, la phénylamine, l'essence de girofles et dans une solution de chlorure de calcium.

La couleur rouge rose foncé, qui se développe dans la solution alcoolique par l'addition d'un peu d'eau, d'acide

sulfurique ou de quelques autres réactifs est le résultat d'une hydratation et non, comme je l'ai cru tout d'abord, d'une oxydation, car, en faisant passer un courant d'oxygène à travers la solution, sa teinte ne change pas.

Le pouvoir colorant de ce pigment est très intense; 10 cent. cubes d'une solution alcoolique très concentrée et permettant à peine le passage de la lumière à travers un tube de 13^{mm} de diamètre laissent, après évaporation à sec dans un tube à pesée, moins de 0,025 gr. de résidu solide. Ceci démontre un pouvoir colorant extrêmement puissant que possèdent, je crois, seulement certaines couleurs d'aniline. Je n'ai pas réussi à obtenir la matière colorante pure sous une forme cristalline de quelque manière que ce soit, même dans le vide, et la solution alcoolique se décompose si rapidement que je pense la chose probablement impossible.

3. *Propriétés spectroscopiques.*— Le spectre d'absorption des substances organiques a été, dans ces dernières années, l'objet de l'attention de nombreux observateurs, qui ont trouvé que les portions ultra-violettes de ces substances permettaient de déterminer beaucoup de corps en présence desquels les méthodes ordinaires de l'analyse chimique demeuraient impuissantes. Ce sujet a été étudié en France par M. Soret, M. Lecocq de Boisbaudran, dans un livre très apprécié et fort bien illustré (1), MM. Cornu, Salet, etc.

En Angleterre, le professeur W. N. Hartley F. R. S., est, de tous les auteurs, celui qui s'est le plus occupé de cette branche de la science; outre de nombreuses recherches sur ce sujet, il a examiné et décrit le spectre ultra-violet des principaux alcaloïdes, il a inventé et perfectionné les appareils délicats nécessaires à ces recherches, et je dois à son obligeance l'examen du spectre de ce pigment. C'est à lui que je suis redevable des faibles connaissances que j'ai sur ce sujet, et je le prie d'agréer ici mes sincères remerciements pour les renseignements qu'il a bien voulu me

(1) *Spectres lumineux*, Paris, 1879.

donner avec l'aide de ses magnifiques instruments, ainsi que pour le dérangement que je lui ai occasionné.

Pour la description détaillée des instruments et des méthodes employées dans ces recherches, je renverrai à aux travaux de M. W. N. Hartley (1), mais je veux cependant présenter ici en quelques mots l'ensemble de la méthode.

La portion visible du spectre s'observe du spectroscope ordinaire. Pour l'examen de la portion ultra-violette, l'on y ajoute, comme complément, une chambre photographique adaptée au spectroscope, ce qui, de toutes manières, est préférable pour ces recherches. La principale difficulté de cette méthode gît dans les longueurs focales des rayons qui diffèrent à l'extrémité la moins réfrangible et à l'extrémité la plus réfrangible. Pour obvier à cet inconvénient, l'on incline la plaque sensible d'un angle considérable par rapport au spectroscope, de manière à mettre au foyer les rayons centraux du champ, quand l'on a constaté que ceux des deux extrémités y sont rigoureusement.

Avec les spectroscopes à réfraction, la dispersion en distance entre les différentes lignes de Fraunhofer varie avec les prismes de constructions différentes et dans les diverses portions du spectre, de sorte que les interprétations données par leurs échelles sont arbitraires et non comparables entre elles, à moins qu'elles ne soient ramenées aux longueurs d'onde. Cela s'obtient en observant sur l'échelle la position des lignes de Fraunhofer ou celles du spectre lumineux de métaux bien connus. Celles-ci sont ensuite transportées sur le bord d'une feuille de papier divisé sur un autre bord de laquelle, à angle droit, se trouve la valeur de ces lignes à l'échelle du spectroscope. L'on mène une courbe par les points d'intersection de ces lignes sur le papier. En notant la position des autres lignes quelconques observées sur l'échelle de l'instrument, et en trouvant leur position sur la courbe, l'on obtient

---

(1) *Philos. Trans. Roy. Soc. London*, 1879, V, 170, p. 257. *Ibid.*, 1885, vol. p. 472. *Journal chemical Society London*, 1887, v. 51, p. 154 *et passim*.

leurs longueurs d'ondes sur le bord opposé de la feuille de papier.

Pour la détermination de lignes fixes de longueurs d'ondes connues, le professeur Hartley (*Philos. trans. Royal Society London*, 1885, p. 473) a adopté une admirable méthode que chacun peut employer facilement d'après sa description. Les rayons d'un spectre approprié sont obtenus au moyen de points métalliques. Dans ce but, il prend pour une électrode un alliage de cadmium et d'étain, pour l'autre électrode, un alliage de cadmium et de plomb. Dans le spectre lumineux de ces substances, les lignes de l'étain sont d'un côté, celles de plomb de l'autre, tandis que les lignes du cadmium contenu dans les deux électrodes s'étendent transversalement d'une extrémité à l'autre (*loc. cit.*, p. 473).

L'on prend ensuite des photographies avec les solutions que l'on se propose d'examiner, et qui sont disposées dans la rainure du spectroscope ; les rayons du spectre lumineux sont concentrés par un condensateur.

Description du spectre de la matière colorante extraite par l'alcool d'une culture du microbe, par W. N. Hartley F. R. S., professeur de chimie au collège royal des Sciences à Dublin.

Spectre visible. Remarques générales. — La solution a une très belle teinte rouge. Elle a été examinée sans dilution dans des cellules de verre à faces parallèles, d'épaisseurs variées de 15, 10, 4, 2 et un millimètres.

Il y avait transmission complète des rayons rouge, orange et jaune, entre les longueurs d'onde de 706 et 559 millioniėmes de milimètres. Au-delà de ce dernier point, extinction complète et absolue de toute lumière, même dans l'extrême violet. Longueur d'onde, 210 environ. A une épaisseur de 3 millimètres et moins, l'on pouvait observer une *bande d'absorption* visible, remarquablement distincte et définie, s'étendant environ de 547 à 522. Entre 522 et 500, était transmise une bande de rayons gris bleu. Au-delà de 500, il y avait absorption totale dans le bleu et le violet. A une épaisseur d'un millimètre, les rayons

étaient faiblement transmis au-delà de 500, mais la bande d'absorption ci-dessus mentionnée était encore visible.

Epaisseur du liquide	Commencement du spectre		Fin du spectre
15 m. m.	λ 706		λ 559
10 m. m.	λ 706		λ 553
4 m. m.	λ 706		λ 547
		Bande d'absorption	
3 m. m.	λ 706	λ 547 à 522	λ 504
2 m. m.	λ 706	λ 545 à 526	λ 502
			Transmission imparfaite ou affaiblie au-delà
1 m. m.	λ 706	λ 544 à 528	λ 499

Spectre ultra-violet.

	Transmission des rayons très faible, environ		
15 m. m.	λ 370 à 360		λ 360
10 m. m.	λ 406 à 34		λ 340
	Spectre fort, continu	Bande d'absorption mal définie	Rayons faiblem' transmis
4 m. m.	λ 444 à 317	λ 317 à 280	λ 280-257
3 m. m.	λ 444 à 317	Transmission affaiblie à	λ 257
2 m. m.	λ 444 à 317	»	λ 221
1 m. m.	λ 444 à 317	»	λ 219

La principale bande d'absorption s'étend de 547 à 522.

Réactions de la matière colorante (en extrait alcoolique). — La solution forte a une jolie teinte d'un rouge ardent, de la même couleur qu'une solution d'une partie d'éosine dans 280 parties d'eau, quand on l'examine à la lumière transmise à travers un tube de 13 mm. de diamètre. Diluée dans l'eau, elle prend une teinte rouge rosée. La solution alcoolique colore la soie en une couleur presque semblable à celle de l'éosine. Elle peut être bouillie dans l'eau et chauffée jusqu'à ébullition avec de l'eau acidifiée d'acide chlorhydrique sans varier de couleur.

L'acide chlorhydrique dilué change la couleur en rouge rose.

L'acide sulfurique fort change la couleur en violet foncé.

La soude caustique change la couleur en jaune; le jaune est changé en rose rouge par les acides.

Le peroxyde d'hydrogène produit une solution légèrement trouble avec une apparence d'une légère fluorescence jaune. Le chlorure de calcium et probablement aussi la poudre de zinc n'ont aucune action sur la couleur.

Signé : W. N. Hartley,
26 février 1889.

Le spectre d'absorption de la solution éthérée du pigment présente quelques différences avec celui de la solution alcoolique, et ces différences sont surtout sensibles dans la région ultra-violette. Bien qu'à l'œil nu la couleur soit moins foncée que celle de la dernière solution, l'absorption est plus fortement accentuée.

Une solution éthérée fortement concentré dans une cellule de 4 m. m. d'épaisseur donne, dans la région ultra-violette, sur la plaque photographique, un spectre commençant à λ 478 et s'étendant à λ 317, où il finit.

J'ai déjà fait ressortir ailleurs la similitude d'apparences et de caractères du pigment de ce microbe *(B. ros. metal.)* avec celui du *M. prodigiosus* (1). Les spectres d'absorption des extraits alcooliques sont presque identiques dans leurs régions visibles et varient seulement, semble-t-il, avec la concentration de la solution. Les spectres sont pourtant nettement différents dans les régions ultra-violettes. Chez le premier, une solution alcoolique d'une épaisseur de 4 m. m. donne une bande d'absorption bien définie de λ 5431 à 5189. Dans l'ultra violet, les spectres d'absorption se présentent comme suit :

10 m. m.	Spectre continu de	λ 441	à λ 303,	où il finit
4 m. m.	»	λ 467	à λ 274	»
3 m. m.	» d'environ	λ 470	à λ 274	»
2 m. m.	»	λ 474 à 274; affaibli	à λ 226	»
1 m. m.	»	λ 474 à 270; »	λ 226	»

(1) Je dois ici revenir sur un fait que j'avais avancé plus haut. J'avais dit que le lustre métallique du pigment provenant du *B. ros. met.* lui était particulier. Je constate que le *M. prodigiosus* présente quelquefois un aspect identique, bien qu'à la vérité moins largement et moins constamment marqué. Dans mes très nombreuses cultures, durant ces dernières années, je n'avais point observé ce fait, mais je constate qu'il a été observé auparavant par Wernich (*loc. cit.*, p. 107).

Ceci montre bien la valeur du spectre d'absorption comme moyen d'analyse.

Le spectre du pigment du *M. prodigiosus* a été antérieurement sommairement indiqué par le Dr Schroeter (*loc. cit.,* p. 59), probablement d'après une culture naturelle non épuisée par un dissolvant. Ses observations, autant que j'en puis juger, concordent avec les miennes, mais il a employé une échelle arbitraire.

Je dois faire observer que l'extrait alcoolique de ce pigment est très instable ; exposé à l'air, il s'altère très rapidement, ainsi que le prouve son changement évident de couleur. Enfermé dans des tubes scellés et conservés dans l'obscurité, il paraît beaucoup plus stable. La solution éthérée placée dans les mêmes conditions se comporte de même.

La soie teinte avec ce pigment est, ainsi que l'a reconnu le prof. Hartley, « bon teint » quand on la fait bouillir avec de l'eau pure ou acidifiée; mais quand on l'expose à l'action de l'air et de la lumière, elle se fane bientôt. Conservée dans un tube scellé exposé à la lumière, elle se conserve mieux, de même aussi quand elle est enveloppée de papier et renfermée dans un tiroir. Le Dr Schroeter (*loc. cit.,* p. 114) semble avoir trouvé que les objets teints avec un extrait du pigment du *Micrococcus prodigiosus* se fanaient de la même manière.

Indépendamment des travaux mentionnés plus haut sur le *M. prodigiosus* par les Drs Schroeter, Weigert et Schottelius, quelques-uns de ces caractères ont été décrits, en même temps que ceux de quelques autres espèces chromogènes, dans un travail de O. Prove (*Cohn Beit, Bd.* IV, H. 3, S. 410), travail dont je viens d'avoir connaissance. Le but principal de tous ces observateurs a été de déterminer les conditions d'où dépend la formation du pigment et, sur ce point, leurs conclusions divergent. J'ai moi-même fait pendant quelques années de nombreuses recherches sur ce microbe *(M. prodigiosus),* je ne puis admettre que la production du pigment soit soumise à une condition ou à une suite de conditions déterminées, mais elle me paraît, dans quelques cas du moins, être purement arbitraire, une illustration de la doctrine Darwinienne, qui veut

qu'une tendance à la variation soit un facteur principal de la genèse de l'espèce.

En ce qui concerne le pléomorphisme, démontré en premier par Davaine chez les schizophytes et fortement combattu ensuite par d'autres observateurs, il me paraît nettement établi dans de nombreux cas. Dans quelques-uns, il est probablement arbitraire, comme la fonction chromogène, et suivant la loi précédente; mais dans le cas du *B. ros. metalloïdes*, ce pléomorphisme dépend clairement, ainsi que je l'ai démontré en détail, de la nature du milieu de culture. M. Prove, également, a établi de son côté qu'un microbe, le *M. ochreoleucus*, donne des cellules en bâtonnets sur les milieux solides et de très petites cellules en coccus dans milieux liquides.

Je me propose de revenir plus tard sur les spectres des pigments et sur les points encore indéterminés des caractères et des fonctions de ces microbes chromogènes; ce sont là des questions dont l'étude pourra avancer nos connaissances sur la biologie générale des schizophytes, en même temps que nous pouvons espérer en tirer quelque avantage pour la branche la plus importante de ce sujet : nous voulons parler de la pathologie microbienne.

EXPLICATION DES FIGURES

Planche IV.

A. — Culture en tube sur gélatine nutritive du *Bacterium rosaceum metalloïdes.* Dessin grandeur naturelle et culture vieille de 24 jours. La teinte à reflets vert-métallique n'est pas indiquée dans la figure.

B. — Le *Bacterium rosaceum metalloïdes* prélevé d'une culture sur pomme de terre bouillie vieille de 4 jours, d'après une photomicrographie de M. Andrew-Pringle. Grossissement 1050 diamètres.

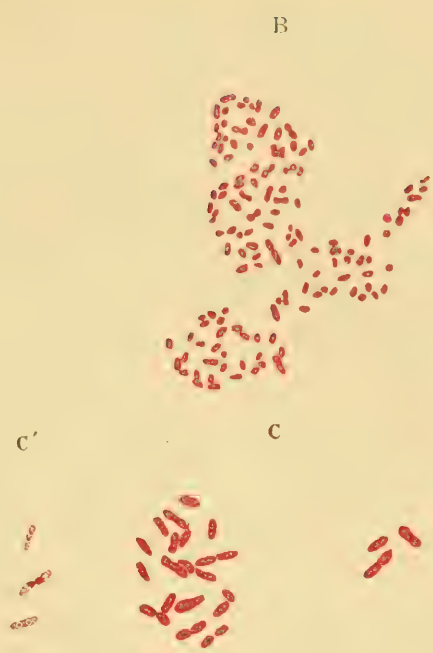
C. — Même organisme, vu sous le même grossissement, photographié par M. Andrew-Pringle, mais prélevé dans une infusion de pois ensemencée depuis 4 jours.

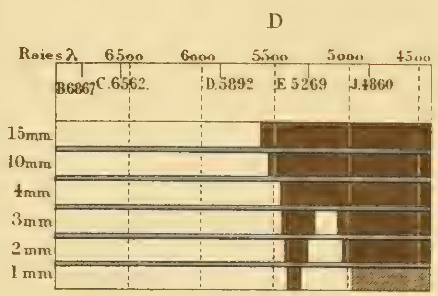
C' — Cellules du *Bacterium ros. metal.* devenues, le siège des mouvements protoplasmiques signalés, page 460.

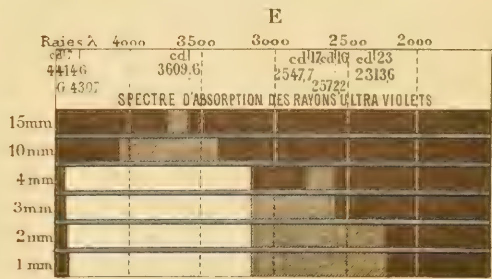
D. — Spectre d'absorption fourni par une solution alcoolique du pigment du *Bacterium rosaceum metalloïdes.* Les chiffres 15, 10, 4, etc., à gauche des bandes, indiquent en millimètres l'épaisseur de la solution traversée par le rayon lumineux.

E. — Spectre d'absorption des rayons ultra-violets; même remarque pour les chiffres situés à gauche de la fig. *E.*









Imp. A. Lafontaine, 150, Bd du Montparnasse

E. Oberlin

NOTES DE LABORATOIRE

SUR L'ACTION DU BACILLE PYOCYANIQUE

SUR LA BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE

PAR

Ed. de FREUDENREICH

Dans une note communiquée récemment à l'Académie des Sciences, M. le professeur Bouchard a relaté d'intéressantes expériences, desquelles il résulte que les lapins auxquels on inocule le charbon et, quelques heures plus tard, le bacille pyocyanique, résistent dans un certain nombre de cas (46 pour 100) au charbon. Les lecteurs de ces Annales ont pu lire le compte rendu de ce Mémoire dans le numéro du 15 mai, p. 380. En 1887 déjà, mon attention avait été attirée sur des faits d'antagonisme existant entre le bacille du pus bleu et beaucoup d'autres bactéries, et, guidé par cette observation, j'avais cherché à empêcher l'éclosion de la maladie charbonneuse par l'inoculation simultanée de cultures vivantes ou stérilisées du bacille pyocyanique. Comme M. Bouchard, je n'ai eu de réussites que dans un nombre limité de cas, et comme je cherchais alors à obtenir une immunité parfaite, j'ai trouvé inutile de publier le résultat de mes recherches. Aujourd'hui, cependant, cette publication me paraît présenter quelque intérêt, pouvant servir à confirmer les faits avancés par M. le professeur Bouchard. Je les fais donc suivre ici telles que je les trouve consignées dans le procès-verbal de mes expériences.

1° Le 21 juillet 1887, un lapin et un cobaye sont inoculés chacun avec une anse de platine d'une culture charbonneuse. Près de la piqûre, on leur injecte une seringue Pravaz d'une culture de pus

bleu dans du bouillon. Le cobaye reçoit encore une seringue de la même culture à l'autre cuisse, et le lapin, une dans la veine de l'oreille. Le 22, on renouvelle ces injections de cultures du bacille pyocyanique de la même façon. Le cobaye semble malade, la cuisse est enflée. Le 22 au soir, le cobaye meurt. L'autopsie, faite le 23, ne décèle aucune bactéridie charbonneuse dans le sang ni dans la rate. On en fait toutefois deux cultures, dont l'une reste stérile et l'autre donne le bacille pyocyanique. Le 23, le lapin se porte bien et reçoit encore trois seringues de cultures de pus bleu. Le 26, il continue à être en bonne santé.

Des deux animaux ainsi traités, l'un, le lapin, a donc résisté, l'autre, le cobaye, a succombé à une infection causée par le bacille pyocyanique.

2° Le 29 juillet 1887, on inocule le charbon à un lapin jaune et à un lapin gris. Le jaune recoit en même temps une seringue de culture pyocyanique dans la cuisse inoculée et une dans la veine de l'oreille. Le 30, nouvelle injection pyocyanique dans la veine de l'oreille. Le 1er août, le lapin gris a la jambe inoculée très enflée et semble assez malade. Le jaune va bien, et reçoit deux seringues de culture pyocyanique stérilisée, l'une dans la veine de l'oreille, la seconde à la jambe. Le 2 août, le lapin gris meurt charbonneux, le jaune continue à se bien porter jusqu'au 15 août. Son oreille seule est malade; une partie de l'injection ayant pénétré dans le tissu cartilagineux et déterminé une gangrène.

Dans cette expérience, l'inoculation du bacille pyocyanique a donc de nouveau exercé une action préservatrice.

3° Le 3 août 1887, un lapin et deux cobayes sont inoculés avec une culture charbonneuse. L'un de ces derniers et le lapin reçoivent des injections de bacilles pyocyaniques. Le cobaye témoin meurt charbonneux le 4. Le lapin va bien et est revacciné. Le 5, le cobaye vacciné a l'air fort malade; on le revaccine, mais il meurt le 6. Les cultures du sang donnent le bacille pyocyanique; on voit cependant des bactéridies dans les préparations microscopiques, et il reste incertain si la mort est due au charbon ou à l'infection pyocyanique. Le lapin résiste.

Ici, la vaccination pyocyanique a préservé le lapin et prolongé au moins la vie du cobaye, puisque le cobaye témoin est mort deux jours plus tôt.

4° Le 4 août, on inocule le charbon seul à un lapin. Un second apin est inoculé avec une culture charbonneuse, puis avec

une culture pyocyanique. Il est revacciné le 5 et le 6 avec une culture stérilisée de pus bleu. Dans la nuit du 6 au 7 août, le premier lapin meurt charbonneux. Le second va bien, et n'avait pas encore contracté le charbon à la date du 15 août. L'oreille seulement, dans une veine de laquelle la culture pyocyanique avait été injectée, est fortement tuméfiée et gangrénée par places.

Ici encore, même résultat que précédemment.

5° Le 11 août, on inocule le charbon (poche sous-cutanée à la cuisse) à deux lapins, dont l'un reçoit en même temps trois seringues de culture *stérilisée* du bacille pyocyanique dans la veine de l'oreille et une dans le voisinage du point d'inoculation. On le revaccine le 12 (une seringue dans la veine de l'oreille). Le 13 août, le lapin témoin meurt du charbon, le second succombe à la même maladie le 15.

D'après cette expérience, les inoculations de cultures stérilisées de pus auraient retardé la marche de la maladie.

6° Le 11 août, deux cobayes sont inoculés avec le charbon (anse de platine poussée sous la peau). L'un reçoit, en outre, une seringue d'une culture stérilisée pyocyanique dans le péritoine et, le 12, une seconde dans la cuisse inoculée, Le premier meurt le 13, le second du 14-15 août.

Ici, même résultat que dans l'expérience précédente.

7° Le 17 août, on inocule deux lapins avec une culture charbonneuse mélangée à une culture pyocyanique. Le premier meurt le 25. A l'autopsie, point de bactéridies dans les préparations; vastes foyers purulents; les cultures du pus donnent le bacille pyocyanique. Le second meurt du charbon le 19.

Ici, dans un cas, le bacille pyocyanique a tué le lapin, mais empêché le développement du charbon. Dans l'autre cas, la vaccination pyocyanique n'a pas empêché l'éclosion de la maladie charbonneuse.

8° On inocule le charbon à un lapin le 19 août. En même temps, injection de deux seringues de culture pyocyanique vivante dans la veine de l'oreille. Mort le 22 d'infection pyocyanique. Point de bactéridies dans les organes. Une culture du foie donne le bacille pyocyanique; une culture du sang du cœur reste stérile.

9° Le 23 août, deux lapins sont inoculés avec le charbon (anse

de platine poussée sous la peau), et reçoivent : l'un deux seringues de culture pyocyanique dans la veine de l'oreille et une dans la cuisse inoculée, l'autre une seringue dans l'oreille et une dans la cuisse. Le premier meurt le 26 août du charbon ; le second meurt également le 26, mais on ne trouve pas de bactéridies à l'autopsie. La rate est normale ; infiltration purulente au lieu d'inoculation.

10° Un gros lapin est inoculé le 23 août avec une culture charbonneuse et une culture pyocyanique mêlées ensemble (1/3 charbon et 2/3 bouillon pyocyanique). Résiste. Un lapin témoin meurt du charbon le 27.

11° Deux lapins et un cobaye sont inoculés, le 15 septembre 1887, comme précédemment, avec des cultures mélangées. Un lapin reçoit une seringue du mélange ; le second et le cobaye, 1/2 seringue. Les deux lapins meurent du charbon le 18, le cobaye le 19.

12° Un lapin reçoit, le 7 novembre 1887, dans la cuisse, une seringue de culture pyocyanique et, par la même canule laissée en place, une seringue de culture charbonneuse. Il meurt le 10. L'autopsie indique une septicémie ; la rate n'est pas gonflée, les préparations microscopiques montrent des bactéridies déformées ; le sang du cœur donne toutefois une culture charbonneuse.

Ainsi, sur 18 animaux inoculés avec des cultures charbonneuses virulentes et traités par l'injection de bacilles du pus bleu, 5 ont résisté, soit à peu près 28 %. 8 sont morts du charbon. 5 sont morts de l'infection pyocyanique. Dans ceux cas, toutefois (n°s 3 et 12), il reste incertain si le charbon n'a pas aussi été la cause de la mort ; cependant la déformation des bactéridies trouvées dans les préparations dans un cas et, dans l'autre, le résultat des cultures qui ont donné le bacille pyocyanique, font paraître l'infection pyocyanique plus probable. Dans deux cas (n°s 5 et 6), où le traitement s'est fait avec une culture pyocyanique stérilisée, la mort par le charbon n'a pas pu être empêchée. Tout au plus constaterait-on quelque retard dans la marche de la maladie. On peut donc en conclure que l'effet préservatif des injections de cultures pyocyaniques n'est pas dû à des manières solubles qu'elles contiendraient, mais plutôt à une irritation locale qui rendrait les tissus impropres au développement de la bactéridie. On voit, en effet, que les cas dans lesquels l'effet préservatif a été le plus marqué sont ceux dans lesquels une notable quantité de culture pyocyanique a été introduite dans les tissus

inoculés avec le charbon. Dans les cas où la quantité injectée a été trop peu considérable, au contraire, on voit le charbon éclater et suivre sa marche fatale habituelle, probablement parce que la réaction des tissus, provoquée par l'injection du bacille pyocyanique, n'a pas été assez vive. En quoi consiste cette réaction? Est-elle due à l'action des phagocytes de Metschnikoff? C'est là un point spécial qu'il y aurait intérêt à étudier.

Ainsi que l'ont fait MM. Charrin et Guignard à l'occasion du travail de M. Bouchard, nous avons aussi recherché à déterminer, par des expériences *in vitro,* si cette action préservatrice du bacille pyocyanique pouvait s'expliquer par une influence directe sur la bactéridie. Les résultats que nous avons obtenus ne parlent pas en faveur de cette hypothèse, car, ainsi que nous l'avons démontré dans un Mémoire sur l'antagonisme des bactéries (*Annales de l'Institut Pasteur,* II, p. 200), la bactéridie charbonneuse se développe bien dans le bouillon dans lequel a vécu le microorganisme du pus bleu.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE *(Suite)*

PAR

Le Dr P. MIQUEL

---

§ II. — Méthodes applicables à l'étude des ferments ammoniacaux.

A. — Milieux de culture. — Triage des ferments. Dosage de l'urée fermentée.

Les ferments ammoniacaux se trouvent répandus un peu partout : dans l'air, les eaux et le sol ; au cours de l'étude particulière qui sera faite de chacun d'eux, nous indiquerons leur habitat de prédilection, et plus tard, dans un nouveau Mémoire, les proportions dans lesquelles ils se rencontrent dans ces mêmes éléments.

Ici, nous parlerons des moyens d'investigation qui permettent à l'observateur de recueillir leurs espèces variées, de les isoler et de les caractériser.

D'abord, où doit-on rechercher ces ferments ? Il peut paraître rationnel et d'une bonne pratique d'aller à leur rencontre, soit dans les urines déjà fermentées, soit dans les liquides des vidanges ; en un mot, dans les endroits où leur existence est facilement décelée par l'odorat. Cependant, cette façon d'opérer me paraît défectueuse : si les urines fermentées peuvent présenter un ou plusieurs microbes agents de l'hydratation énergique de l'urée, ces microbes y sont pourtant peu variés. Ces liquides fortement ammoniacaux montrent surtout des ferments énergiques : le micrococcus de M. Pasteur, le bacille grêle que j'ai découvert, quelques autres bacilles de plus forte dimension ; mais on y rencontre plus rarement les espèces

dont l'action biologique est lente, ce qui tient vraisemblablement à la difficulté qu'elles éprouvent de croître dans les milieux rendus déjà très alcalins par les ferments très actifs. Je préfère, pour ma part, attendre que les ferments de l'urée se présentent spontanément à moi, soit dans le cours des analyses microscopiqnes des eaux, soit dans les analyses bactériologiques de l'air et du sol. Mais, pour mettre leur présence en évidence, il faut les placer dans des conditions où ils puissent aisément manifester leurs fonctions biochimiques, ce qui m'amène naturellement à parler un instant des milieux où il faut les introduire.

Milieux propres à cultiver les ferments ammoniacaux. — Puisque les agents hydratants de l'urée se distinguent des autres espèces par la faculté de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque, tous les milieux nutritifs où l'on devra cultiver pour la première fois ces espèces devront renfermer de la carbamide ; il en sera de même des liqueurs qui devront servir à établir leur activité fermentative.

Parmi les liquides, on pourra choisir entre les urines naturelles et les urines artificielles ; parmi les *substrata* solides, la gélatine, le lichen, la gélose chargée d'urée. La préparation de ces milieux n'offre pas de difficulté sérieuse, cependant elle exige quelques soins spéciaux et mérite quelques remarques dont les expérimentateurs pourront tenir un certain compte.

Préparation de l'urine stérilisée. — On devra se servir d'un liquide animal fort voisin de l'urine normale ; l'urine de l'homme étant la plus facile à se procurer, il faudra autant que possible la recueillir à trois ou quatre sources différentes, de façon que le mélange obtenu offre une composition moyenne. D'après mes essais, une urine ainsi récoltée fournit une richesse en urée variant de 17 gr. à 22 gr. par litre.

L'urine recueillie est d'abord soumise à l'ébullition dans un vaste ballon ; si l'on opère, par exemple, sur 2 litres d'urine, on emploiera un vase d'une contenance de 4 litres ; car, au moment de l'ébullition, ce liquide animal mousse beaucoup et tend à s'échapper des vaisseaux qui le contiennent. L'ébullition sera maintenue très douce, de façon

à détruire, en les coagulant, les principes muqueux ou albumineux qu'elle renferme. Au bout de dix minutes, le but est atteint ; on laisse l'urine se refroidir, et, au bout de vingt-quatre heures, on la filtre et on l'introduit dans de gros matras munis d'un tampon de coton.

Les matras à demi-pleins sont placés à l'autoclave pendant une heure environ. Sous l'action de la chaleur humide de 110°, l'urine contracte une couleur acajou foncé, d'acide elle devient alcaline et abandonne fort souvent un dépôt terreux dû à la précipitation des phosphates et des urates divers qui ne sauraient rester en solution dans une urine pourvue d'un certain degré d'alcalinité. Après refroidissement, nouvelle filtration, et, finalement, le liquide clair obtenu est distribué et stérilisé dans les vases mêmes où il doit être soumis à l'expérience. L'urine peut alors subir les températures élevées de l'autoclave, sans perdre sa parfaite limpidité ; si quelque dépôt peut encore apparaître dans le liquide, il est constitué par des cristaux grenus ou aciculaires, visibles à l'œil nu, qui forment au fond du vase un précipité brillant, sableux et cristallin.

L'urine ainsi préparée a perdu, dans les chauffes successives auxquelles elle a été soumise, une certaine quantité d'urée pouvant varier de 1 gr. à 3 gr. par litre ; elle est donc déjà ammoniacale ; aussi, dans les expériences précises sur les quantités d'urée détruite par les ferments, il est indispensable de doser l'urée de l'urine après sa dernière stérilisation et de prendre ce dosage initial pour point de départ.

Il est à noter que cette alcalinité première de l'urine n'est pas un obstacle au développement des ferments ammoniacaux ; au contraire, elle semble favoriser la multiplication de plusieurs d'entre eux.

Urine artificielle. — Dans mes travaux sur les ferments ammoniacaux, publiés en 1878 et 1879, je donne la description de quelques urines artificielles fabriquées en utilisant les sels et les principes extractifs contenus dans les urines normales ; j'ai reconnu que tous ces soins étaient inutiles, que les urines ordinaires sont loin d'être aussi nutritives pour les ferments ammoniacaux que le bouillon

de peptone additionné d'urée pure. L'usage des urines artificielles a cela de bon qu'on peut avoir toujours à sa disposition un liquide d'une composition constante, tandis que les urines naturelles, même mélangées, ont rarement des compositions identiques. Suivant les cas, on pourra être appelé à charger ces bouillons de 50 gr., 100 gr. et même 150 gr. d'urée pure par litre ; en dépassant cette dose, on s'expose à obtenir des liquides inaltérables par les ferments ammoniacaux, l'urée accumulée sous ce poids devenant antiseptique et rendant imputrescibles les liquides où on la dissout en quantité si considérable.

Pour préparer ces urines artificielles, on introduit dans du bouillon de peptone bien fabriqué, à réaction très légèrement acide, l'urée en quantité voulue ; on fait bouillir quelques minutes, on filtre et l'on stérilise directement dans les vases qui doivent servir aux cultures ; il arrive souvent que l'excès d'alcalinité dû à la décomposition partielle de l'urée pendant la stérilisation détermine la formation d'un très léger dépôt ; mais ce dépôt est ici insignifiant et ne gêne en rien les expériences.

Gélatine d'urine. — L'urine bouillie, déjà soumise une première fois à l'autoclave, reçoit la dixième partie de son poids de gélatine Coignet n° 1 ; on la clarifie au blanc d'œuf avec toutes les précautions nécessitées par cette opération. Cette gelée d'urine possède habituellement une couleur ambrée intense, elle reste claire indéfiniment; mais, en vieillissant, elle peut présenter dans sa masse quelques cristallisations dendritiformes, qui n'ont jamais l'aspect d'une altération provoquée par les bactéries ou les moisissures; et parfois également de nombreuses sphérules noires, ou rouge sombre, rappelant les colonies bactériennes, mais uniquement formées par des urates; en tout cas, l'examen microscopique lèvera aisément les doutes de l'observateur.

Gélatine d'urine artificielle. — Pour obtenir cette gélatine d'urée, il suffit d'ajouter simplement à de la gélatine de peptone ordinaire, quelques instants avant sa clarification, 10 gr. à 20 gr. d'urée par litre. On prépare de même, sans aucune difficulté, de la gélose et du lichen chargés d'urée. Ces divers milieux peuvent être employés dans

une étude générale sur les ferments ammoniacaux; il est bon d'en avoir sous la main quelques centaines de flacons. Les *substrata* solides chargés d'urée présentent cette propriété intéressante qu'ils peuvent être, durant la croissance des ferments ammoniacaux, l'objet de modifications curieuses qui permettent d'affirmer si l'organisme qui s'y développe fait ou non partie des agents capables d'hydrater l'urée; en effet, dans le cas où le microorganisme qui se développe sur le *substratum* fait partie des ferments énergiques, on constate, très peu de temps après l'ensemencement, autour de la colonie, la production d'une auréole formée de petits cristaux qui, quelques jours après, gagnent la masse entière des gelées qui semble alors mélangée à une poussière cristalline. La gélatine formée avec de l'urine et la gélose nutritive chargée d'urée sont surtout le siège de ce phénomène au voisinage des piqûres; plus rarement ces cristaux se répandent dans la masse du *substratum*. En général, les gélatines chargées d'urée sont plus impropres à la culture des ferments que la gélatine peptonisée ordinaire; cependant, il existe plusieurs organismes-ferments de la classe des bacilles qui se développent mal ou pas du tout sur les gelées peptonisées, et qui croissent, au contraire, rapidement dans les gelées chargées d'une faible ou forte quantité de carbamide.

Séparation des ferments. — J'ai dit qu'il était préférable de rechercher les ferments ammoniacaux parmi les organismes vulgaires de l'air, du sol et des eaux, présentés par le hasard à l'observateur, que de tenter de les isoler des urines ou des matières de vidanges en fermentation. Effectivement, il se présente dans ces milieux surtout des variétés vulgaires mélangées à un grand nombre d'agents saprophytes qui étouffent et ne permettent pas aux agents délicats de la fermentation ammoniacale de se multiplier avec la liberté qui leur est nécessaire. Le procédé que je préconise est beaucoup plus long, il est vrai, car il consiste à saisir en entier les colonies développées sur la gélatine ou à prélever une goutte de bouillon altéré par les ensemencements fractionnés, et à introduire ces colonies et ces gouttes dans de l'urine normale stérilisée ou dans de l'urine artificielle, puis, enfin, à attendre 7 à 8 jours,

quelquefois davantage, le résultat de ces ensemencements.

Parfois l'organisme ne croît pas dans l'urine qui reste indéfiniment limpide et inaltérée; très souvent, au contraire, il s'y développe, mais sans provoquer la décomposition d'une quantité notable d'urée, contrairement aux agents de la fermentation ammoniacale; d'autres fois, cette fermentation s'établit à des degrés divers : l'urine perd, par exemple, 5 gr., 10 gr., et 20 gr. de l'urée qu'elle contient. Quoi qu'il en soit, les urines non ammoniacales sont rejetées et l'on procède à un dosage rapide de celles qui le sont devenues. Ce premier dosage éclaire quelquefois l'expérimentateur sur l'activité chimique des organismes qu'il a sous la main; souvent aussi l'expérimentateur ne doit attacher aucune importance à cette première analyse, sur laquelle on ne doit pas compter si l'espèce n'est pas pure, autrement dit si elle est mélangée à d'autres bactéries incapables de déterminer la moindre fermentation. En effet, j'ai fréquemment trouvé des ferments très actifs qui, à l'état de mélange, ne pouvaient déterminer que la disparition de 5 gr. à 6 gr. d'urée au bout de 8 jours, alors que, amenés à l'état de pureté, ils décomposaient 20 gr. d'urée en moins de 48 heures. Il faut donc sans cesse avoir présent à l'esprit que les colonies, même d'apparence homogène, nées sur la gélatine, sont habituellement impures, et qu'il faut procéder à la séparation des espèces qu'on y rencontre. Sur plusieurs centaines d'ensemencements opérés dans ces conditions, c'est à peine si le hasard m'a présenté quelques colonies constituées par des agents de la fermentation ammoniacale à l'état de pureté.

Cependant, comme il existe plusieurs ferments de l'urée incapables de se multiplier aisément dans le bouillon et dans les gelées peptonisées ordinaires, il arriverait que plusieurs d'entre eux ne seraient jamais découverts si l'on se contentait d'étudier simplement les organismes développés dans des milieux simplement peptonisés; je citerai comme appartenant à cette classe d'organismes beaucoup de bacilles urophages, tandis que je ne connais pas encore de micrococcus-ferment qui se soit refusé à croître facilement dans le bouillon ou les *substrata* solides dépourvus d'urée. Il est donc souvent indispensable d'explorer l'at-

mosphère, les eaux et le sol avec des milieux chargés de carbamide; ces expériences peuvent être faites facilement au moment des dosages de l'air et des eaux par les procédés habituels; aux conserves de bouillon et de gélatine employées à ces essais, il suffit de joindre quelques milieux chargés d'urée.

Les colonies formées par les ferments ammoniacaux qu'on voit croître sur les gelées contenant de l'urée se décèlent habituellement elles-mêmes, bien avant que les organismes vulgaires aient manifesté leur présence par des taches perceptibles à l'œil nu; les colonies constituées par des agents hydratants de l'urée sont ordinairement rapidement visibles, grâce, je le répète, aux cristaux qui se disposent autour de l'espèce en voie de croissance; ces taches, on les reconnaît entre mille à leur aspect anguleux, irrégulier, qui n'a rien de commun avec la régularité, la sphéricité plus ou moins parfaite des autres colonies; il est facile de prélever alors, au moyen d'une boucle faite d'un fil de platine un peu gros, ces colonies, et de poursuivre leur étude au moyen des procédés qui me restent à exposer.

Je dois ajouter qu'on ne doit pas confondre les cristaux grenus qu'occasionne la production du carbonate d'ammoniaque dans les gelées, avec certaines colonies filamenteuses et cristalliformes, qu'on observe parfois dans les gelées chargées d'urée, et qui sont dues à certains bacilles migrateurs rayonnant de leur point d'éclosion à la périphérie. Il arrive aussi que certains bactériens agents de l'hydratation de l'urée, liquéfient la gélatine et, par suite, que les cristaux tombent au fond du liquide; on pourra, dans ce cas, aller à la découverte des ferments ammoniacaux, en plongeant une petite boucle de fil de platine stérilisée dans le liquide des cupules, et en essuyant la boucle sur du papier tournesol rouge, qui bleuira fortement quand ces liquides seront très alcalins. — Enfin, j'ai également employé, pour la recherche des ferments ammoniacaux, la matière colorante du curcuma, qui vire au rouge vif là où ces ferments se développent, la cochenille et le tournesol rougis par les acides, qui deviennent violets et bleus dans des points circonscrits au moment de l'éclosion

des microbes urophages. Dans ce genre d'essais, les gélatines d'urine et d'urée, toujours alcalines après leur stérilisation, seront, au moment de la fabrication des plaques colorées, ramenés à un certain degré d'acidité, au moyen d'une solution stérilisée du colorant dans l'acide tartrique. Ce sont là des petits tours de main de laboratoire qui aident singulièrement au triage des ferments qui nous occupent.

Avant d'entrer dans la description des procédés généraux applicables à l'étude des ferments ammoniacaux, je rappellerai que, pour faciliter la séparation des espèces bacillaires ferments de l'urée des espèces coccoformes, on pourra, avec avantage, avoir recours à une méthode que j'ai décrite il y a dix ans, et qui m'a permis d'isoler le bacille grêle ferment de l'urée de l'espèce découverte et étudiée par MM. Pasteur et Van Tieghem; on chauffera donc à cette intention les eaux naturelles, ou les poussières de l'air diluées dans de l'eau stérilisée, à une température de 60° à 65°, qu'on pourra maintenir pendant quelques heures et même quelques jours. Tous les ferments que décèleront ces eaux appartiendront à la classe des bacilles, ou du moins, je dois affirmer que je n'ai jamais vu de micrococcus véritables se multiplier après l'action prolongée de cette température.

On portera alors les eaux naturelles et les liquides où les poussières de l'air ont été diluées entre 60° et 65°, puis on fractionnera ces liquides dans de l'urine naturelle ou artificielle, ou de la gelée chargée d'urée. Parmi les espèces bacillaires qui se développeront dans ces milieux, on rencontrera des bacilles urophages toujours exempts de micrococcus. On peut de bien des manières varier ces recherches, mais j'attire aujourd'hui, comme autrefois, l'attention des expérimentateurs sur ce procédé de laboratoire, qui simplifie et abrège la séparation des ferments bacillaires de l'urée.

Dans les recherches sur les ferments ammoniacaux, il arrive fréquemment de rencontrer, dans des urines devenues spontanément ammoniacales, des organismes absolument morts, c'est-à-dire incapables de reproduire une hydratation qu'ils ont tout d'abord déterminée avec beaucoup

d'énergie; l'ensemencement de ces urines au fil de platine reste infécond; il en est de même de l'ensemencement de plusieurs gouttes du liquide fermenté, et très souvent le vase, entièrement vidé avec la précaution de conserver les dépôts, sur lesquels on verse une urine fraîche stérilisée, ne donne pas de meilleurs résultats : le ferment est définitivement tué et l'espèce est perdue. Pour parer à l'inconvénient que je signale, on devra surveiller de jour en jour les urines mises à fermenter et, avant qu'il se soit produit une quantité trop considérable de carbonate d'ammoniaque, on ensemencera le liquide soit dans du bouillon, soit dans de la gélatine nutritive, très légèrement chargée d'urée, et où l'espèce pourra se développer sans avoir à redouter l'action trop caustique du carbonate d'ammoniaque.

Je ne peux évidemment entrer ici dans tous les détails que comporte une étude sur les ferments ammoniacaux. Lors de la description des espèces que j'ai découvertes et isolées, j'aurai l'occasion de signaler les particularités qui les distinguent les unes des autres. Mais je peux ajouter d'ores et déjà que la fermentation ammoniacale s'effectue avec plus d'énergie et plus de rapidité à 30° qu'à des températures inférieures à ce degré de chaleur. Afin d'éviter de nombreuses redites, on voudra bien se souvenir que, dans toutes mes recherches, les urines normales et artificielles, les bouillons divers, les gelées de lichen et de gélose nutritive, ont été placés, sauf avis contraire, dans une étuve rigoureusement réglée entre 30° et 31°, et qu'enfin les gélatines ordinaires ou chargées d'urée ont été exposées dans une étuve variant de 18° à 22°.

Du dosage de l'urée dans les liquides fermentés. — Il est heureux pour l'expérimentateur que la biogénèse du carbonate d'ammoniaque s'accomplisse généralement sur des quantités relativement élevées d'urée, car il n'existe pas, à vrai dire, de procédé précis pour le dosage de très faibles quantités de cette substance, tenue en solution dans les liquides nutritifs en voie d'altération.

Au nombre des méthodes de dosage de l'urée qu'on peut être appelé à employer, nous citerons celle de Liebig, modifiée par Rautenberg, qui présente cependant de nom-

breuses causes d'erreurs, demande un temps très long et exige une grande habileté de la part de l'analyste.

Le procédé de Millon, basé sur la décomposition de l'urée en eau, acide carbonique et azote, sous l'influence de l'azotite de mercure, est beaucoup plus simple : il suffit de recueillir les gaz dégagés sous l'action de l'acide azoteux et de peser l'acide carbonique. Ce procédé n'est pas directement applicable au dosage de l'urée disparue ou en voie de disparition dans les urines en fermentation ; ces urines renferment toujours, on le sait, du carbonate d'ammoniaque qu'il faut évidemment chasser tout d'abord, ce qui complique l'analyse.

Cela étant, je préfère, pour ma part, le dosage par les hypobromites alcalins, qui permet d'opérer à froid et avec plus de célérité. On pourra employer à cet usage l'un des uromètres répandus dans les laboratoires ou un simple gros tube gradué, muni d'un entonnoir à robinet, le tout disposé sur une cuve à mercure.

Voici comment cette opération peut être conduite : l'urine, complètement fermentée ou en voie de décomposition, sera puisée au moyen de pipettes stérilisées sous le volume de 5^{cc} à 10^{cc}. Cette urine ammoniacale sera portée dans une capsule de porcelaine chauffée au bain-marie de vapeur d'eau ; là, elle ne tardera pas à perdre son carbonate d'ammoniaque, puis, au bout d'une demi-heure, le résidu sec sera repris par de l'eau distillée qui le redissoudra complètement, fournira une nouvelle urine absolument dépourvue de carbonate d'ammonium ; effectivement ce résidu a perdu toute alcalinité et accuse au tournesol une réaction légèrement acide. Enfin, ce résidu dissous sera traité par l'hypobromite de soude et, après absorption de l'acide carbonique, la détermination de l'azote dégagée permettra de calculer la quantité d'urée restant à disparaître, autrement dit, celle qui n'a pas été encore touchée par le ferment.

Les urines complètement fermentées, traitées par l'hypobromite de soude, donnent un faible volume d'azote dû vraisemblablement à la décomposition de l'acide urique ou de ses ammoniacaux fixes, que l'urine normale fermentée peut conserver en solution. On devra donc déter-

miner, pour les urines d'origines diverses, quelle est la quantité de cet azote dégagé après leur fermentation complète; si ce volume d'azote, d'ailleurs très faible, reste constant après plusieurs jours d'une fermentation active, on peut être certain qu'il ne provient pas de l'urée.

Avec les urines artificielles ou les solutions d'urée pure nutritifiée avec un peu de peptone, le procédé à l'hypobromite de soude fournit des résultats beaucoup plus précis, qui ont surtout le mérite d'être très comparables et qui permettent de suivre avec tout le soin désirable la marche des fermentations.

On doit, par mesure de précaution, établir pour chaque échantillon d'urée le volume d'azote qu'il peut fournir par gramme, et n'admettre jamais comme pure l'urée que fournit le commerce. L'urée industrielle devra être d'abord purifiée par une cristallisation dans de l'eau distillée, et ensuite par plusieurs cristallisations successives dans l'alcool. Elle devra présenter un point de fusion situé entre 130° et 132°, enfin se volatiliser complètement par la chaleur sans laisser de résidu. J'ai eu entre les mains des urées commerciales renfermant, non seulement des sels ammoniacaux, mais des sulfates de potasse et de soude, dans la proportion de 10 à 15 pour 100.

En terminant ce paragraphe, il me reste à parler d'une dernière méthode de dosage de l'urée dont j'ai souvent fait usage, et qui m'a fourni de très bons résultats; mais elle n'est pas générale et ne peut être appliquée qu'aux fermentations qui s'accomplissent en vases scellés ou tenus hermétiquement clos. Elle consiste à calculer l'urée disparue d'après la quantité de carbonate d'ammoniaque produit.

Dans ce cas, le dosage compliqué de l'amide carbonique se trouve ramené à un simple dosage alcalimétrique.

Il est essentiel de ne pratiquer ces essais que sur les urines artificielles très peu riches en phosphates, car les urines normales donnent un abondant précipité de phosphate ammoniaco-magnésien et d'urates qui renferme une quantité assez notable de l'ammoniaque qu'on doit nécessairement doser.

Les urines artificielles sont introduites dans un tube de

la forme indiquée en AB *(fig. 1)*, puis, au moment de l'ensemencement, on enlève la bourre de coton et l'on scelle le tube au trait *t* indiqué dans la figure 1; on obtient ainsi un appareil semblable à celui qui est représenté en A′. La fermentation achevée, ou en voie de s'accomplir, on pratique le dosage du liquide enfermé dans l'ampoule de la façon suivante : un tube de caoutchouc est adapté à l'extrémité supérieure T de l'ampoule, on fait basculer le tube, on casse la pointe opposée que l'on plonge dans

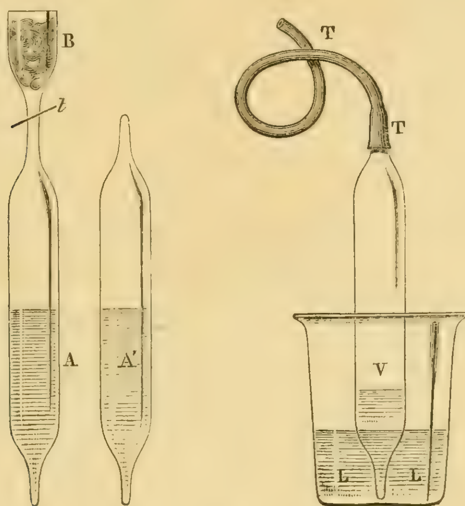


Fig. 1.

AB, tube rempli à moitié d'urine stérilisée. — A′, tube ensemencé et scellé. TTV, tube transformé en pipette et en vidange dans la solution sulfurique titrée LL.

un vase LL contenant un excès de liqueur sulfurique, on casse à travers le tube de caoutchouc la pointe T, le liquide s'écoule dans le vase où sera exécuté le dosage volumétrique, on souffle légèrement de façon à chasser l'air de l'ampoule contenant des vapeurs ammoniacales, puis, par aspiration, on lave l'intérieur de l'ampoule transformée ainsi en pipette, et l'on sature le mélange des deux liquides au moyen d'une solution de soude caustique d'un titre exactement correspondant de la liqueur sulfurique. Il est inutile d'ajouter comment on peut, avec une solution

de soude ainsi titrée, déterminer le poids de l'acide sulfurique employé à former du sulfate d'ammoniaque, et combien il est facile de déduire de là la quantité d'urée disparue dans la liqueur.

Un seul exemple suffira pour démontrer l'exactitude de cette méthode, appliquée aux dosages comparatifs.

Trois échantillons de bouillon contenant par litre : le premier 25 gr. d'urée sèche, le second 50 gr., le troisième 100 gr., sont ensemencés avec un *Bacillus ureæ* très actif. Au bout de 5 jours d'étuve à 30°, le liquide des tubes scellés, analysé par le procédé alcalimétrique qui vient d'être décrit, accuse les disparitions d'urée suivantes :

Le premier échantillon..........	25 gr.	2
Le deuxième »	50	4
Le troisième »	100	8

Je donne sans corrections les chiffres fournis par ma liqueur sulfurique, évidemment trop faible, puisqu'elle accuse plus d'urée qu'il n'en a été mis.

Si, tout à l'heure, j'ai dit qu'il était indispensable de déterminer à quel volume d'azote pouvait correspondre la décomposition de 1 gr. d'urée, il n'est pas moins utile de rechercher ici à combien d'ammoniaque correspond 1 gr. d'urée complètement hydratée par les micro-organismes ferments. Ce sont là, des contre-expériences qu'on ne doit jamais négliger si l'on veut s'avancer sûrement dans l'étude des fonctions chimiques des ferments de la biogénèse ammoniacale. On comprendra que je ne veuille pas insister plus longtemps, dans ce journal, sur les manipulations que nécessitent ces divers essais ; on les trouvera longuement décrites dans les traités de Chimie analytique.

(A suivre.)

LES LABORATOIRES DE MICROGRAPHIE

A L'EXPOSITION UNIVERSELLE DE 1889 *(Suite)*

III. — Laboratoire de l'Inspection des viandes de boucherie.

Dans l'un des pavillons de la Ville de Paris et dans l'enceinte réservée à la préfecture de police, un emplacement réellement trop modeste est attribué au laboratoire de bactériologie de l'inspection des viandes de boucherie. Sur une table, on voit un microscope avec quelques réactifs, un album et un meuble contenant des préparations microscopiques; au-dessus de cette table, on aperçoit trois tableaux représentant fidèlement plusieurs morceaux de viande altérés par la péripneumonie, la fièvre bovine et la tuberculose. M. Moulé, chargé de la partie bactériologique de l'inspection des viandes, et bien connu par ses intéressantes recherches, aurait certainement mérité, pour son exposition spéciale, un crédit plus large; car enfin, on sait le grand intérêt que présentent ses travaux journaliers, et surtout les services qu'ils sont appelés à rendre à l'hygiène publique; mais il n'a pas dépendu de MM. Villain et Moulé de rendre leur exposition plus confortable, pas plus qu'il ne dépend assurément d'eux d'avoir encore, pour laboratoire aux halles, une sorte de corridor où deux personnes ont peine à se croiser. Ces faits sont très regrettables, et la Municipalité de Paris, instruite d'un pareil état de choses, prendrait à cœur, nous en sommes persuadé, de fournir à M. Villain et à ses collaborateurs, MM. Bascou et Moulé, un local plus en rapport avec leurs études pratiques et théoriques. L'album exposé par l'Inspection de la boucherie est particulièrement intéressant à feuilleter; les dessins qu'il renferme sont, pour la plupart, dus aux crayons habiles de MM. Moulé et Bascou. Nous y aperce-

vons des dessins en couleurs de plusieurs préparations de sang charbonneux, de cultures charbonneuses, de liquides sanguins mélangés de *Bacillus anthracis* et *subtilis*, de vibrions du sang, de microorganismes du sang putride, des bacilles des viandes à odeur rance, des micrococcus du choléra des poules, des bacilles de la morve et de la tuberculose, des streptococcus des mammites contagieuses, et dans un rang plus élevé du monde microscopique, des sporospermies, des sarcosporidies, des échinocoques, des douves du foie, de la trichine musculaire, etc... ; ces dessins, de la plus scrupuleuse fidélité, nous paraissent présenter le plus haut intérêt.

A quelques pas du laboratoire de l'Inspection de la boucherie, se trouve placé, dans une sorte de serre, le Laboratoire municipal de Chimie de la Préfecture de Police, dans lequel nous distinguons un appareil de photomicrographie destiné à stéréotyper les falsifications des matières alimentaires, et quelques flacons coniques, usités pour l'étude bactériologique des eaux. Ces derniers appareils, munis de bouchons de caoutchouc, de tubes et d'entonnoirs à robinets, nous semblent bien peu appropriés à l'usage auquel on les destine; le vase conique à capuchon rodé et tubulé nous paraît infiniment plus commode.

IV. — Assistance publique de Paris.

Parmi les nombreux objets en usage dans les salles des hôpitaux rassemblés par l'Assistance publique, on distingue le laboratoire de bactériologie du Dr Dubief, qui nous semble renfermer tous les instruments d'investigation nécessaires à l'étude des infiniment petits. Ici, du moins, les appareils heureusement modifiés ne sont ni oubliés ni systématiquement proscrits; les matras Pasteur y coudoient les flacons si commodes de M. de Freudenreich, les chambres humides, les flacons coniques, les vases destinés à contenir et à distribuer les liquides stérilisés ; mais malheureusement, comme beaucoup d'entre elles, ces expositions spéciales sont, faute d'espace, ou reléguées au sommet des vitrines, ou noyées parmi des objets qui n'ont aucun rapport avec l'étude des infiniment petits.

Dans la même pièce, et au voisinage du laboratoire du Dr Dubief, le laboratoire médical de l'hôpital Laënnec expose toute une série de photomicrographies obtenues à des faibles grossissements, il est vrai, mais parfaitement réussies. Parmi ces belles épreuves positives, nous signalerons la coupe d'une moëlle lombaire normale (30 diamètres), d'une moëlle lombaire d'un sujet atteint de paralysie enfantine (30 diamètres), d'une moëlle cervicale d'un sujet atteint d'ataxie locomotrice (25 diamètres), des photographies de cellules motrices de la moëlle, des cellules araignées des paralytiques généraux, etc. ; on remarque également dans la même exposition de belles reproductions de psorospermies du lapin, du cysticerque du même animal, d'un sillon cutané de l'acarus de la gale; des photographies de l'embryon du poulet, un *Pediculus pubis* très fortement grossi, et un crochet des pattes de ce même parasite, obtenu sous une amplification de de 350 diamètres.

V. – Compagnie de vulgarisation des vaccins Pasteur

L'exposition particulière de cette Compagnie se trouve située dans le pavillon d'hygiène à l'Esplanade des Invalides ; elle représente un modèle en petit d'un laboratoire muni de tous les instruments exigés pour la fabrication artificielle des vaccins. Rien n'y manque, autoclave à stérilisation, appareils à filtration à chaud, verrerie appropriée, étuve de M. Pasteur, chauffée par la circulation de la vapeur, construite par M. Wiesnegg. Dans l'étuve, sont présentés les liquides stériles nécessités par la fabrication des vaccins : bouillon de veau et de poule, et des cultures vaccinales désignées sous les noms de premier et deuxième vaccins charbonneux; enfin, la Compagnie offre aux yeux du public plusieurs modèles de seringues à injection sous-cutanée pour vacciner les moutons et les animaux de forte taille.



REVUES ET ANALYSES[1]

Bütschli. — **Sur la structure du protoplasma** (*Verhaudlungen des Naturhist. — Med. Vereins zu Heidelberg*, N. F. IV, Bd. 3 Heft., 3 et 12, mai 1889, p. 1-12 du tirage à part).

Dans une note publiée, en mai 1888, dans le *Biologisches Centralblatt,* et brièvement analysée dans le n° 4 des Annales, l'auteur émettait l'opinion que le protoplasma peut être comparé à une véritable émulsion constituée par les globules de paraplasma inclus dans du Hyaloplasma. Dans le présent travail il expose les expériences par lesquelles il est parvenu à reproduire une émulsion extrêmement fine, très stable, résistant à l'eau, bien que se laissant pénétrer par elle et présentant, en un mot, l'*apparence* du protoplasma.

L'agitation violente d'un mélange d'eau de savon et de benzine ou de xylol produit une émulsion fine susceptible de se conserver pendant 2 mois sans changement aucun, mais les gouttes de cette émulsion doivent être observées dans la benzine ou le xylol. En se basant sur le fait observé par Quincke que les solutions aqueuses diffusent à travers les huiles grasses, l'auteur a imaginé une autre méthode pour obtenir de fines émulsions pouvant résister à l'action de l'eau. En pulvérisant aussi complètement que possible, soit du sucre de canne, soit du sel commun, et en le mélangeant avec de l'huile d'olives il a fourni une pâte visqueuse dont il a pris des gouttelettes qu'il a placées à la face inférieure de lamelles reposant par des points de cire sur des lames contenant une goutte d'eau. La gouttelette huileuse se trouvait donc ainsi suspendue dans l'eau entre la lame et la lamelle. Après 24 heures de séjour dans la chambre humide, l'eau a diffusé à travers l'huile, et est venue former avec les particules solubles d'innombrables gouttelettes d'une solution de sucre ou de sel. La goutte d'huile est deve-

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

nue laiteuse et opaque. Pour annihiler cette opacite due à l'écart énorme des indices de réfraction de l'huile et des solutions salines, l'auteur éclaircit le tout en substituant à celle-ci de la glycérine. Après cela, on peut étudier cette émulsion, même à l'immersion homogène.

Les gouttelettes d'émulsion ainsi formées demeurent liquides et gardent suspendues librement dans l'eau leur forme arrondie. Dans cet état, elles présentent de nombreux points de ressemblance avec la structure du protoplasma et rappellent, même par la disposition des gouttelettes contre leurs parois, la couche ectoplasmique d'apparence radiée si fréquente chez les protozoaires.

Ayant voulu reprendre plus tard ses expériences avec une autre huile d'olives que celle qu'il avait d'abord employée, l'auteur reconnut que l'émulsion ne se formait pas, d'où il conclut que toutes les huiles ne se prêtent pas à cet usage. L'huile de lin cuite, du commerce, mélangée de son volume d'huile d'olives, lui a pourtant permis de former des émulsions.

F. D.

Dr Emile Chr. Hansen. — **Sur les microorganismes observés dans les flux visqueux des arbres vivants** (*Centralbl. für Bacteriol. n. Parasitenk*, V, f. 632, 633 et 693).

On doit déjà au professeur Ludwig quelques recherches sur la cause des écoulements visqueux que présentent parfois les arbres. Dans un cas, en particulier, où il s'agissait d'une maladie des chênes, il avait isolé, des matières visqueuses sorties de l'écorce, un champignon microscopique auquel il donna le nom de *Endomyces Magnusii*, et qu'il considéra comme la cause de la maladie; il y avait encore trouvé, en outre de quelques autres microorganismes, un Saccharomycète, dont les cellules ont la forme d'un citron, et qu'il suppose être une phase du développement de l'*Endomyces Magnusii*.

A la même époque, M. Hansen avait eu l'occasion d'étudier des maladies analogues, dont il nous communique le résultat dans le présent Mémoire. Dans les flux visqueux qu'il a observés sur des chênes, des ormes, des marronniers et des tilleuls, il a trouvé les microorganismes suivants : *Penicilium glaucum*, *Mucor racemosus* et d'autres mucorinées; différentes variétés de *Dematium* et de *Cladosporium*, *Fusarium*, *Monilia*, *Torula pastoriana*, *Saccharomyces apiculatus*, *Mycoderma cerevisiæ*, diverses levûres rouges, *Saccharom. membranæfaciens*, ainsi que divers Saccharomycètes, Péronosporées et bactéries. Il ne trouva que dans un seul cas la

forme en oïdium de l'*Endomyce Magnusii* de Ludwig, et le saccharomycète en forme de citron, qui, selon Ludwig, ferait partie du cycle évolutif de l'*Endomyces M.* Il en conclut donc, avec raison, qu'il ne saurait être considéré comme la cause de la maladie en question des arbres. Parmi les autres espèces trouvées par M. Hansen, aucune ne prédominait de façon à ce que l'on puisse lui assigner ce rôle. Plusieurs de ces microorganismes pouvaient d'ailleurs y concourir, et l'aspect différent de ces flux mucilagineux proviendrait peut-être de la prédominance de l'une ou l'autre espèce. Le seul moyen d'arriver à résoudre ces points obscurs sera, ainsi que le propose M. Hansen, de faire des expériences d'inoculation sur l'arbre vivant.

Dans le cours de ces recherches, M. Hansen a été amené à examiner l'hypothèse émise par le professeur Ludwig, savoir que l'*Endomyces M.* et le Saccharomycète trouvé avec ce dernier ne seraient que des phases diverses du développement d'un même organisme. Il résulte des expériences les plus variées, que l'auteur a instituées à cet égard, en partant de cultures absolument pures de ces divers microorganismes obtenues par sa méthode, des ensemencements ayant une cellule unique pour point de départ (voir le Mémoire de M. Hansen, paru dans ces Annales, sur les levûres de bière, en particulier, t. I, p. 13), que cette hypothèse est dénuée de fondement, et que le point de vue déjà souvent mis en relief par M. Hansen, de la constance de l'espèce pour les Saccharomycètes, reste vrai pour le *Saccharomyces* décrit par M. Ludwig. L'étude du Saccharomycète de M. Ludwig a, en outre, fourni un résultat intéressant à l'auteur, au point de vue de la variation que l'on peut produire dans les fonctions de ce végéial par les procédés de cultures. M. Hansen avait remarqué, en observant la formation des endospores, dans ces cultures des différences entre les cellules; les unes avaient une tendance marquée à les produire, d'autres ne les formaient que maigrement et lentement. Or, en cultivant de préférence tantôt les unes, tantôt les autres, M. Hansen est arrivé, par ce procédé de sélection naturelle, à diviser le *Saccharomyces* Ludwig en trois variétés végétatives, dont l'une forme de belles spores, tandis que la seconde n'en produit presque plus et la troisième plus du tout.

E. F.



BIBLIOGRAPHIE

Annuaire de l'observatoire municipal de Montsouris pour l'an 1889, un vol. in-18, p. 555, avec 64 fig. Edit. Gauthier-Villars et fils. Paris.

Comme ceux qui l'ont précédé, cet ouvrage est consacré à l'exposé des résultats obtenus à l'observatoire de Montsouris par les chefs de service de cet établissement scientifique. Outre les données météorologiques de l'année 1888, ce nouvel annuaire renferme un travail fort intéressant de M. Albert-Lévy, sur l'analyse chimique de l'air, des eaux météoriques, de sources, de rivières, d'égout, etc., et un mémoire de M. Miquel sur l'analyse micrographique de ces mêmes éléments. La réputation de cette publication périodique est suffisamment établie pour que nous n'ayons pas à faire ressortir sa valeur et son utilité, mais on ne saurait trop louer l'Administration et la Municipalité de la Ville de Paris des sacrifices qu'elles font et qu'elles sont toujours disposées à faire toutes les fois que l'hygiène publique peut retirer un bénéfice lointain ou immédiat de recherches analogues à celles qui se poursuivent depuis bientôt vingt ans à l'observatoire de Montsouris.

R. S.

L'Œuvre de C.-J. Davaine, un volume in-8° de 864 pages avec 7 planches. J.-B. Baillière et Fils, 1889.

Une main pieuse et amie a rassemblé et offre au public savant les mémoires, restés jusqu'ici épars, du Dr C.-J. Davaine, enlevé, en 1882, par une cruelle maladie, au moment, on peut l'affirmer, où il aurait eu la satisfaction bien méritée de voir marcher à pas de géant la science dont il est un des plus illustres fondateurs, pour laquelle il a vécu et combattu jusqu'à la dernière heure. La lecture de l'*Œuvre de Davaine* captivera tous les bactériologistes qui savent que l'étude des maladies infectieuses a débuté par l'étude du charbon, commencée par Rayer et Davaine,

en 1850, et poursuivie sans interruption par ce dernier savant, de l'année 1863 à l'année 1880. Durant cette période de 17 ans, on doit à Davaine 31 mémoires sur la bactéridie charbonneuse, le sang de rate, la pustule maligne, le virus charbonneux. En dehors de ces recherches de premier ordre, Davaine a publié de nombreux travaux, sur l'anatomie et la physiologie des huîtres, de tératologie; tout le monde connaît encore ses belles études sur le parasitisme végétal, sur l'anguillule de la nielle du blé, les parasites des fruits, les vibrioniens, etc. Ces divers mémoires, la famille Davaine les a groupés méthodiquement dans le volume que nous n'avons pas la prétention d'analyser, mais de signaler simplement la récente apparition. Chacun voudra lire ces premiers travaux avant-coureurs de si admirables découvertes, où l'auteur, en butte aux difficultés de toute sorte, privé d'une technique encore à créer, marche résolument, insensible au scepticisme des uns, et renversant les objections des autres, vers un but qu'il croit être et est effectivement la vérité. Après avoir parcouru ces pages si pleines d'enseignement pour tous, le lecteur ne se refusera pas, j'en suis persuadé, de rendre un légitime hommage à la mémoire du savant qui n'est plus, et de payer son tribu d'admiration à celui dont M. Pasteur se félicitait d'avoir été si souvent le continuateur.

D^r^ M.

G. Malbran. — **Estudio sobre la patogenia del colera** (thèse inaugurale) (Buenos-Aires).

Cette thèse est un travail consciencieux et impartial sur la pathogénie du choléra indien, dans lequel l'auteur fait l'historique complet de la question, décrit les recherches auquelles il s'est livré, qui l'amènent à déclarer que la cause première du choléra est bien le spirille de Koch, enfin il combat, en terminant, les théories déjà anciennes de M. Pettenkoffer, qui ont dû s'incliner et sont appelées, dit-il, à disparaître devant les nouvelles conquêtes de la bactériologie.

D^r^ M.

Frank S. Billings. — **Swine-plague, its Cause, Nature and Prevention,** un volume in-8° de 414 pages avec 13 planches hors texte, Lincoln, Nebraska, U. S. A.

L'ouvrage du savant directeur du laboratoire de pathologie biologique de l'Université de Nebraska, des États-Unis d'Amérique, est consacré à l'étude de la pneumonie infectieuse des porcs

(*Swine-Plague*). M. Billings envisage cette maladie au point de vue historique, géographique et étiologique; pour lui, le microbe réellement spécifique de la pneumonie infectieuse du porc a été, pour la première fois, découvert par le Dr H.-J. Detmers et n'a rien de commun avec le micrococcus et le bactérium trouvé par le Dr Salmon. Après une étude fort étendue sur la nature, les symptômes, le diagnostic, la cause de cette affection de l'espèce porcine, M. Billings traite des moyens prophylactiques qui paraissent les plus propres à la prévenir et à la faire disparaître.

L'ouvrage réellement intéressant de M. Billings nous est parvenu accompagné d'une brochure du même auteur *(Swine-Plague, Hog-cholera critically considered)*, contenant elle-même un extrait de conférence intitulé *(Salmon's inconsistences again exposed)*. Nous comprenons qu'on se fasse un devoir de relever les erreurs scientifiques d'un savant compatriote; mais, dans l'état actuel de nos mœurs, la forme et l'opiniâtreté des attaques de M. Billings contre le Dr Salmon nous paraissent bien hors de saison; les discussions modérées étant aujourd'hui infiniment plus à la mode que les pamphlets acrimonieux qui indisposent généralement ceux qui les lisent contre ceux qui les font.

Dr M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

BACTÉRIOLOGIE

A. Gilbert et Lion. — Recherche des microorganismes dans les épanchements pleuraux (*Annales de l'Institut Pasteur,* t. II, p. 662).

C. Helman. — Action du virus rabique introduit, soit dans le tissu cellulaire sous-cutané, soit dans les autres tissus (*Annales de l'Institut Pasteur,* t. III, p. 15).

E. Metschnikoff. — Recherches sur la digestion intracellulaire (*Annales de l'Institut Pasteur,* t. III, p. 25).

E. Roux. — Sur la présence du virus rabique dans les nerfs (*Annales de l'Institut Pasteur,* t. III, p. 67).

N. Tchistovitch. — Contribution à l'étude de la tuberculose intestinale chez l'homme (*Annales de l'Institut Pasteur,* t. III, p. 209).

A. Stchastny. — Sur la formation des cellules géantes et leur rôle phagocytaire dans la tuberculose des amygdales et de l'épiglotte (*Annales de l'Institut Pasteur,* t. III, p. 224).

Dr Valenzuela. — Sobre la epidemia del colera en la Sorena (Rapport publié dans le *Boletin de Medicina,* nos 43 et 44, p. 315. Santiago de Chile, 1889).

C. Mandiola Cana. — Estudio sobre los enfermedads carbunclosas; su frecuencia in Chile, medidas higienicas y preventivas que convendria adoptar y su mejor tratamiento (thèse inaugurale) (*Boletin de Medicina,* nos 43 et 44, p. 337. Santiago de Chile, 1889).

V. Cornil et A. Chantemesse. — La pneumo-entérite des porcs (*Journal de l'Anatomie et de la Physiologie normales et pathologiques des hommes et des animaux,* t. CXIV, n° 6).

Clusan. — Epidémie de fièvre typhoïde d'origine hydrique, observée sur la garnison de Vernon (*Archives de Médecine et de Pharmacie militaires,* avril 1889).

A. Zune. — Traité de microscopie médicale et pharmaceutique, brochure in-8°, 136 pages et 41 figures. J.-B. Baillière, Paris.

E. Duclaux. — Sur la conservation des microbes (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 78).

Galippe et W. Vignal. — Sur les microorganismes de la carie dentaire (*Journal des Connaissances médicales,* t. X, p. 90).

J. Darier.— Sur une nouvelle forme de psorospermose cutanée : la maladie de Paget du mamelon (*Journal des Connaissances médicales*, t. X, p. 105 et 161).

G. Thin. — Experimental researches concerning *Trichophyton tonsurans* (*British medical journal,* février 1889).

Fréd. Eve. — Case of actinomycosis of the liver (Un cas d'actinomycose du foie) (*British medical journal,* mars 1889).

J. Harrisson. — Further researches on the treatment of tinea tonsurans (Recherches sur le traitement de la teigne tonsurante) (*British medical journal,* mai 1889).

Mac Fadyen. — Epidemie of typhoid from milk at Sterling (Une épidémie de fièvre typhoïde due au lait observée à Sterling) (*British medical journal,* juin 1889).

A. di Vesta et G. Zagari. — Sur la transmission de la rage par voie nerveuse (*Annales de l'Institut Pasteur,* t. III, p. 237).

I. Straus et A. Dubarry. — Recherches sur la durée de la vie des microbes pathogènes dans l'eau (*Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologique,* t. I, n° 1).

Grancher et Deschamps. — Recherches sur le bacille typhique dans le sol (*Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologique*, t. I, n° 1).

H. Martin. — Note sur la culture du bacille de la tuberculose (*Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologique*, t. 1, n° 1).

Bossano. — Origine tellurique du tétanos. Atténuation du virus tétanique par le passage sur le cobaye (*Revue de Médecine*, t. IX, n° 2).

A. P. Fokker. — Ueber das Milchsäureferment (Sur le ferment lactique) (*Fortschritte der Medicin*, VII, p. 401).

Prof. Dr R. Thoma. — Ueber eigenartige parasitäre Organismen in den Epithelzellen der Carcinome (Sur des organismes parasitaires spéciaux dans les cellules épithéliales des carcinomes) (*Fortschritte der Medicin*, VII, p. 413).

Dr Joh. Raum. — Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse über den Einfluss des Lichtes auf Bacterien u. auf den thierischen Organismus (De l'état actuel de nos connaissances sur l'action de la lumière sur les bactéries et sur l'organisme animal) (*Zeitschrift für Hygiene*, VI, 2, p. 312).

Prof. K. B. Lehmann et Dr Tollhausen. — Studien über Bacterium phosphorescens Fischer (Etudes sur le bact. phosphorescens Fischer (*Centralbl. für Bacteriol. u. Parasit.*, V, p. 785).

V. Babes. — Bacteriologische Untersuchungen über septische processe des Kindesalters (Recherches bactériologiques sur les processus septiques dans l'enfance (avec 21 dessins en couleur, Leipzig, Veit et Cie, éditeurs, 1889).

M. W. Beijerinck. — Die Bacterien der Papilionaceenknöllchen (Les bactéries des tubercules des papilionacées (*Botanische Zeitung*, 1888, p. 726).

Adam Prazmowski. — Ueber die Wurzelknöllchen der Leguminosen (Sur les tubercules des racines des légumineuses) (*Botanisches Centralblatt*, XXXVI, p. 215).

Gabbi, Umberto. — Sopra un nuovo e rapido metodo di colorazione della capsula del pneumobacillo di Fraenkel (Sur un nouveau procédé rapide de coloration du pneumobacille de Fraenkel) (*La Riforma medica*, 1889, n° 31).

Foa, P. et Bonome, A. — Ueber Schutzimpfungen (Sur les vaccinations préventives) (*Zeitschrift für Hygiene*, V, 3, p. 445).

L. Maggi. — I microbi vantaggiosi all'uomo (Les microbes utiles à l'homme. In-8°, Milan (Frat. Dumolard), 1888.

Ernest ALMQUIST. — Einige Erfahrungen über Verschleppung von Typhusgift durch Milch (Quelques observations de transfert du virus typhique par le lait) (*Deutche Vierteljahrsschrift für oeffentliche Gesundheitspflege,* XXI, 1889, p. 327).

BOZZOLO CAMILLO.— La batterioscopia quale criterio diagnostico della meningite cerebro-spinale (La bactérioscopie comme moyen de diagnostic de la méningite cérébro-spinale) (*La Riforma medica,* 1889, n° 45).

Dr C. FRAENKEL et Dr Richard PFEIFFER. — Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde (Atlas microphotographique des bactéries) (Berlin, *Hirschwald,* Livraisons 1-3).

Dr Prospero DEMATEIS. — Zur Uebertragung des Virus durch die Placenta (Sur le passage du virus par le placenta) (*Centralblatt für Bacteriol. u. Parasitenkunde,* V, p. 753).

J. SCHRANK. — Untersuchungen über den im Hühnerei die stinkende Fäulwiss hervorrufenden Bacillus (Recherches sur le bacille qui cause la putréfaction fétide de l'œuf de poule) (*Wiener med. Iahrbücher,* 1888, p. 303).

James EISENBERG. — Ueber keimfreie Kuhmilch und deren Verwendung zur Kinderernährung (Sur le lait de vache privé de germes et son emploi dans l'alimentation de l'enfant) (*Wiener Klinische Wochenschrift,* 1889, n°s 11 et 12).

N. PROTOPOPOFF. — Einige Bemerkungen über die Hundswuth (Quelques remarques sur la rage) (*Centralbl. für Bacterial. u. Parasitenkunde,* V, p. 761).

BOBROFF. — Ueber acute infectiöse Osteomyelitis (Sur l'ostéomyélite aiguë infectieuse) (*Wiener med. Presse*, 1889, n°s 8 et 9).

Arthur HANAU. — Ueber die Entstehung der eitrigen Entzündung der Speicheldrüsen (Sur la cause de l'inflammation purulente des glandes salivaires) (*Arbeiten aus dem pathologischen Institute zu Zürich,* herausgegeben von Prof. Dr Klebs, 2, p. 487).

Arthur HANAU. — Ueber einen Fall von eiteriger Prostatitis bei Pyämie als Beitrag zur Lehre von den ausscheidungskrankheiten (Sur un cas de pyémie accompagnée de prostatite purulente) (*Arbeiten aus dem path. Institute zu Zurich*, herausgegeben von Prof. Dr Klebs, 2, p. 505).

Dr L. ADAMETZ. — Bacteriologische Untersuchungen über den Reifungsprocess der Käse (Etudes bactériologiques sur la maturation des fromages) (*Landwirthschafteiche Iahrbücher*, XVIII, p. 227).

Dr Achille Monti. — Sull'etiologia del reumatismo articolare acuto (Sur l'étiologie du rhumatisme articulaire aigu) (*Riforma medica*, mars 1889).

Dr Achille Monti. — Contributo allo studio della meningite cerebro-spinale (Contribution à l'étude de la méningite cérébro spinale) (*Riforma medica*, mars 1889).

Dr Pietro Canalis. — Sulla disinfezione dei carri che hanno servito al trasporto del bestiame sulle strade ferrate (Sur la désinfection des wagons ayant servi au transport du bétail sur les voies ferrées) (*Giornale della R. Societa Italiana d'igiene*, 1889, p. 5).

TECHNIQUE MICROSCOPIQUE

M. Herman. — Procédé rapide de coloration du bacille tuberculeux dans les liquides et tissus organiques (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 161).

J. Krasilstchick. — Nouvelle étuve chauffée au pétrole, à température réglable à volonté (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, page 166).

Dr Ch. Achard. — Sur l'emploi de quelques réactifs colorants de la graisse et de la myéline (*Journal des connaissances médicales*, tome X, p. 28).

EXPOSITION RÉTROSPECTIVE ET GÉNÉRALE DE MICROSCOPIE.

A l'occasion de l'*Exposition internationale de botanique, géographique, commerciale et industrielle*, qui aura lieu à Anvers, en 1890, le comité exécutif de cette exposition a décidé de célébrer le *3e centenaire* d'une des inventions les plus fécondes dont la science puisse se glorifier, celle du *microscope*. A cet effet, il se propose d'organiser :

1° Une exposition rétrospective du microscope ;

2° Une exposition d'instruments de tous les constructeurs actuels, d'appareils accessoires et de photomicrographies.

Une série de conférences, accompagnées de projections au microscope photo-électrique seront données pendant la durée de l'exposition. Elles auront pour objet :

1° L'histoire du microscope ;

2° L'emploi du microscope;
3° Le microscope à projection et la photomicrographie;
4° La structure microscopique des végétaux;
5° La structure microscopique de l'homme et des animaux;
6° Les microbes;
7° Les falsifications des substances alimentaires, etc., etc.

Le programme définitif de ces fêtes jubilaires paraîtra prochainement; nous les communiquerons sans retard à nos lecteurs.

Il est superflu de faire ressortir l'intérêt qui s'attache à cette exposition spéciale à laquelle notre rédaction est disposée à accorder tout le concours dont elle est capable; en conséquence, nous engageons dès aujourd'hui les micrographes et les constructeurs français à donner leur adhésion à une œuvre si profondément scientifique et plus tard à contribuer par tous les moyens possibles à l'éclat du centenaire projeté par le comité exécutif de l'*Exposition générale et rétrospective de microscopie* dont il nous reste à faire connaître le nom des membres :

Ch. de Bosschere, *président*. Ancien président de la commission organisatrice et secrétaire général du Congrès international de botanique et d'horticulture d'Anvers (1885).

Dr H. van Heurck, *vice-président*. Professeur de botanique et directeur du Jardin botanique d'Anvers, président de la Société physiologique et micrographique de Belgique.

Ch. van Geert, *secrétaire général*. Vice-président du Cercle Floréal d'Anvers, commissaire permanent de la Chambre syndicale des horticulteurs belges.

Ed. Grandgaignage, *membre*. Directeur de l'Institut supérieur du commerce à Anvers.

G. Royers, *membre*. Ingénieur en chef de la ville d'Anvers, directeur des travaux communaux.

Nota. — Prière d'adresser toutes les communications à M. Charles de Bosschere, *président du comité exécutif*, à Lierre (Belgique).

L'Éditeur-Gérant :

Georges CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

DE L'ACTION ANTISEPTIQUE DE QUELQUES ESSENCES

SUR LES BACILLES

DE LA TUBERCULOSE, DU CHARBON ET DU CHOLÉRA

PAR

Ed. de FREUDENREICH

L'action antiseptique des essences était déjà connue dans l'antiquité la plus reculée. On sait, en effet, l'emploi qu'en faisaient les anciens Egyptiens dans la pratique de l'embaumement, grâce auquel leurs momies ont pu nous arriver dans un haut degré de conservation. Ces qualités des corps aromatiques leur ont également assuré un rôle prépondérant dans la chirurgie et dans la thérapeutique médicale des anciens.

Ce n'est toutefois que depuis peu que les expérimentateurs, incités par les belles découvertes de M. Pasteur et de ses successeurs sur le rôle joué par les infiniment petits dans la production des maladies à rechercher les substances susceptibles d'entraver la pullulation des microorganismes et d'amener leur mort, se sont mis à étudier plus soigneusement la valeur antiseptique des essences, qui, jusqu'ici, n'était guère connue qu'empiriquement. Le premier qui ait fait quelques expériences à ce sujet est, croyons-nous, Jalan de la Croix. Ce savant, dans

ses recherches publiées en 1881, a constaté les propriétés antiseptiques des essences de moutarde de thym et d'eucalyptus (1). Bien que les deux premières se fussent montrées supérieures, à cet égard, à l'acide phénique, les essences restèrent assez longtemps délaissées, l'attention s'étant principalement portée sur les agents chimiques qui, tels que le mercure, l'iode, etc., s'étaient déjà acquis une notoriété légitime dans le nombre des substances préconisées comme microbicides. Le manque de solubilité des essences dans les liquides de culture s'opposait aussi, ainsi que l'a remarqué le Dr Miquel, à l'occasion des nombreuses recherches qu'il a, un des premiers, publiées sur le rôle des antiseptiques, à leur emploi dans des expériences comparatives.

Dans un intéressant mémoire, publié en 1888 (2), M. Chamberland a repris cette étude et communiqué une série de faits dont il résulte qu'un certain nombre d'essences jouissent, en effet, de propriétés antiseptiques énergiques, exercées tant par leurs vapeurs que par leur contact direct, M. Chamberland s'est borné à étudier l'action des essences sur la bactéridie charbonneuse ; mais, il a fait porter ses recherches sur un nombre très considérable d'essences, 115 en tout. Dans la première série de ses expériences, M. Chamberland a étudié l'action des vapeurs ; pour cela, il aspirait dans un tube Pasteur à 2 effilures stérilisé, d'un côté quelques gouttes de l'essence à essayer, de l'autre côté un liquide stérile, nutritif, qui après avoir été saturé avec les vapeurs de l'essence, était ensemencé avec des spores de bactéridies. Treize seulement, des essences employées, ont laissé la bactéridie se développer. Dans une seconde série, M. Chamberland préparait des émulsions de ces différentes essences et les ajoutait aux bouillons de culture. Ce procédé, toutefois, présente l'inconvénient d'introduire des éléments étrangers comme l'alcool et la saponine, dont l'action entravante sur les cultures n'est certainement pas négligeable.

---

(1) Jalan de la Croix, *Das Verhalten der Bacterien des Fleischuassers gegen einige Antiseptica.— Archiv. für experiment. Pathol. 1881*, XIII, p. 175.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, I, p. 153.

Plus récemment, MM. Cadéac et Albin Meunier (1) ont essayé l'action de différentes essences sur les microbes du typhus et de la morve. Ces expérimentateurs ont procédé différemment. Ils enduisent d'une culture sur gélose du microbe à étudier l'extrémité d'un fil de platine préalablement passé à la flamme, puis plongent ce fil dans l'essence pendant un temps variable. Avec le fil portant la culture ainsi modifiée par l'essence, ils ensemençent des tubes de gélose qui sont ensuite placés à l'étuve à 37°. On pourrait peut-être objecter à ce procédé que la quantité de culture qui se trouve à l'extrémité d'un fil de platine est variable, que si on en a enlevé un morceau un peu épais, l'essence pourra ne pas pénétrer dans l'intérieur; qu'enfin, cette parcelle de culture, reportée sur gélose, est enduite d'une couche d'essence qui empêchera peut-être son développement ultérieur, sans avoir, pour cela, tué le microbe. Pour étudier l'action du contact direct de l'essence, il me semblerait préférable de tremper de petits morceaux de papier buvard stérilisés dans des cultures liquides, de les plonger dans l'essence et de les ensemencer alors dans du bouillon. Les inconvénients précités seraient ainsi évités. Quoiqu'il en soit, MM. Cadéac et Meunier ont également constaté la puissante action antiseptique des essences. Ainsi l'essence de cannelle s'est montrée sensiblement égale à la solution de sublimé à 1/1000, et de beaucoup supérieure à l'acide phénique à 5 °/₀, au sulfate de cuivre à 2 °/₀, etc., qui ne tuent le microbe de la fièvre typhoïde qu'après un contact de plusieurs jours, tandis que l'essence de cannelle le tue en 12 minutes. A l'égard du bacille de la morve, les essences ont montré la même puissance; comparée à celle des autres antiseptiques, leur action paraît cependant moins marquée, attendu que la puissance des antiseptiques minéraux à l'égard de ce microorganisme est de beaucoup supérieure à celles qu'ils possèdent contre le bacille d'Eberth.

Dans nos expériences, nous nous sommes bornés à étudier l'action antiseptique des *vapeurs* d'une douzaine d'essences, parmi lesquelles se trouvent la plupart de

---

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, III, p. 317.

celles dont les propriétés microbicides ont été nettement établies par les recherches des expérimentateurs précités. Nous avons également, à titre de comparaison, soumis les microbes étudiés à l'action des vapeurs d'iode et d'iodoforme. Il nous a paru particulièrement intéressant de choisir, pour ces recherches, le bacille de la tuberculose, d'autant plus qu'il nous semblait permis d'espérer qu'une action antiseptique des vapeurs pourrait peut-être trouver quelque application pratique dans la thérapeutique d'un mal débutant généralement par le poumon, organe plus accessible que d'autres à l'action des antiseptiques que nous avions en vue d'examiner. Nous y avons joint deux autres microbes pathogènes, les bacilles du charbon et celui du choléra, dont le premier est doué d'une grande résistance à l'égard des agents bactéricides, tandis que l'autre peut être considéré comme le représentant d'une classe de microbes doués d'une moindre vitalité.

Voici le dispositif de nos expériences.

Les 3 bactéries en question étaient inoculées par stries et par piqûre dans de petits ballons de culture, contenant de la gélose glycérinée pour le bacille de la tuberculose, de la gélose peptonisée ordinaire pour ceux du charbon et du choléra. Nous avions soin, notamment pour le bacille de la tuberculose, d'ensemencer une notable quantité de bacilles puisés au moyen d'un fil de platine dans une culture florissante, à l'effet de donner à l'ensemencement toutes les chances de devenir fécond. Les ballons inoculés étaient alors mis dans des bocaux dans lesquels on laissait tomber 20 gouttes de l'essence à étudier, et l'on fermait ceux-ci avec des bouchons de caoutchouc fermant hermétiquement. Les ballons inoculés étaient mis à l'étuve (39° pour le bacille de la tuberculose, 30-35° pour ceux du charbon et du choléra) et examinés à différents intervalles. Après être restés en contact avec les différentes essences pendant 20 jours, les ballons étaient sortis des bocaux et mis à l'air libre sur les étagères de l'étuve, pour contrôler si, là où il n'y avait pas eu de développement en présence de l'essence, il y aurait encore un développement ultérieur.

L'iode et l'iodoforme étaient, comme les essences, dé-

posés au fond du bocal ; le premier en très petite quantité, quelques petits cristaux seulement ; le second, en assez forte dose, environ une cuillère à café.

Les tableaux suivants donnent les résultats obtenus.

TABLEAU I.

Bacille de la tuberculose

DÉSIGNATION des substances	Après 20 jours d'étuve	Après un séjour ultérieur de 25 jours à l'étuve, et après avoir été soustrait à l'action des vapeurs
Essence de cannelle.	Aucun développement.	Aucun changement.
» de wintergreen.	»	»
» de gingembre.	La strie d'inoculation semble s'être un peu élargie.	»
» de romarin.	Aucune croissance.	»
» de menthe.	»	»
» d'origanum.	»	»
» de thym.	»	»
» de géranium.	»	»
» de lavande.	»	»
» d'angélique.	»	»
» d'eucalyptus.	»	»
» de térébenthine.	Semble avoir un peu crû.	»
Vapeurs d'iode.	Rien, la gélose est brun-foncé.	»
» d'iodoforme.	Rien à la surface, un peu crû dans la piqûre.	»

Le ballon témoin, il est inutile de le dire, présentait 15 jours après l'ensemencement une superbe culture du bacille de Koch.

En outre, une culture en pleine croissance fût soumise pendant 20 jours à des vapeurs d'iodoforme, puis inoculée ensuite abondamment sur de la gélose fraîche. Il n'y eut, sur celle-ci, aucun développement, ce qui prouve que les vapeurs d'iodoforme avaient bien tué la culture.

Par ce qui précède on voit que la plupart des essences employées ont empêché absolument le développement du bacille de la tuberculose. Il est même probable que celui-ci a été tué, puisqu'il n'y a pas eu de développement ultérieur, alors que les cultures étaient soustraites à l'action des essences. On pourrait cependant objecter que ce développement n'a pas eu lieu, parce que le terrain nutritif, pénétré par les vapeurs, était devenu impropre à la culture du bacille. Aussi avons-nous, dans les expériences subséquentes faites avec les bacilles du choléra et du charbon, ensemencé, pour démontrer l'action germicide du con-

de tact prolongé des vapeurs d'essences, des parcelles la surface ou des piqûres dans lesquelles un développement avait eu lieu, dans du bouillon frais ; on verra que le plus souvent aucun développement microbien ne se produit. Il nous paraît, par conséquent, tout au moins fort probable que le bacille de la tuberculose avait également été tué. Nous sommes d'autant plus disposé à le croire que nous avons avons vu plus haut que les vapeurs d'iodoforme, agissant pendant 20 jours sur une culture en pleine activité, l'avaient tuée.

TABLEAU II

Bacille du charbon

DÉSIGNATION des substances	Après 48 heures	17 jours plus tard	Après un séjour ultérieur de 10 jours à l'étuve et après avoir été soustrait à l'action des vapeurs d'essences	Résultat de l'ensemencement de la culture (surface ou parcelles de la piqûre) dans du bouillon frais
Essence de cannelle.	Bien crû.	Pas de changem^t.	—	—
» de wintergreen.	Crû seulement dans la piqûre à partir de 1 cm. au-dessous de la surface.	»	Pas de changem^t.	Bien crû.
» de gingembre.	»	Crû sur toute la surface.	—	—
» de romarin.	Crû le long de la piqûre ; rien à la surface.	Un peu crû à la surface.	Bien crû.	Bien crû.
» de menthe.	Crû seulement dans la piqûre, à partir de 1 cm. au-dessous de la surface.	Pas de changem^t.	Bien crû.	»
» d'origanum.	»	»	Pas de changem^t.	»
» de thym.	Bien crû.	»	—	—
» de géranium.	Assez bien crû à la surface et le long de la piqûre.	»	—	—
» de lavande.	N'a crû que dans la piqûre, à partir de 1 cm. au-dessous de la surface.	»	Pas de changem^t.	N'a pas crû.
» d'angélique.	»	»	Bien crû.	A crû.
» d'eucalyptus.	»	»	Pas de changem^t.	N'a pas crû.
Vapeurs d'iode.	Rien, la gélose est brun-foncé.	»		
» d'iodoforme.	Très bien crû ; le gazon est cependant moins épais que d'habitude.	»		

TABLEAU III.

Spirille du choléra

DÉSIGNATION des substances	Après 48 heures	17 jours plus tard	Après 10 jours de séjour ultérieur à l'étuve et après avoir été soustrait à l'action des vapeurs d'essence	Résultat de l'ensemencement de la culture (surface ou parcelle de la piqûre) dans du bouillon frais
Essence de cannelle.	Crû dans la piqûre; rien à la surface.	Pas de changem[t].	Pas de changem[t].	N'a pas crû.
» de wintergreen.	»	»	»	»
» de gingembre.	Bien crû.	»	—	—
» de romarin.	Assez bien crû.	Crû sur toute la surface.	—	—
» de menthe.	»	Pas de changem[t].	Pas de changem[t].	N'a pas crû.
» d'origanum.	»	»	»	»
» de thym.	Crû un peu.	Bien crû.	—	—
» de géranium.	Crû dans la piqûre, mais seulement à partir de 1 cm. au-dessous de la surface	Pas de changem[t].	Pas de changem[t].	N'a pas crû.
» de lavande.	Très faible croissance.	»	»	»
» d'angélique.	Bien crû dans la piqûre	»	—	—
» d'eucalyptus.	Crû dans la piqûre seulement.	»	Pas de changem[t].	N'a pas crû.
» de térébenthine.	Bien crû.	»	—	—
Vapeurs d'iode.	Aucune croissance; la gélose est noircie.	»		
» d'iodoforme.	Rien à la surface.	Un peu crû dans le fond de la piqûre.	Légère croissance.	N'a pas crû.

Ces expériences ne sont certainement ni assez nombreuses, ni assez variées pour constituer une étude complète de l'action antiseptique des essences employées. Elles permettent toutefois d'affirmer cette action, et corroborent les résultats généraux obtenus par d'autres auteurs. La puissance des essences antiseptiques a été le plus marquée surtout à l'égard du bacille de la tuberculose; en effet, 2 des essences employées seulement ont peut-être permis un très léger développement de ce microorganisme, savoir les essences de térébenthine et de gingembre, qui, dans les expériences de MM. Chamberland, Cadéac et Meunier, n'étaient pas non plus parmi les plus efficaces. Encore est-il difficile d'affirmer qu'il y ait eu croissance réelle; la strie d'inoculation semblait bien un peu élargie, mais il serait fort possible qu'elle eut dès le début été un

peu plus largement ensemencée. Dans tous les cas, dans ces deux tubes la croissance commencée s'est bientôt arrêtée, et, comme dans les autres ballons, aucun développement ultérieur ne s'est produit quand l'action des vapeurs eut cessé. Dans tous les cas, ces résultats nous paraissent assez encourageants pour justifier quelques essais que nous comptons faire en vue de déterminer si plusieurs de ces essences pourraient avoir une action thérapeutique dans le traitement de la tuberculose.

En ce qui concerne le charbon et le choléra, on remarquera d'abord que l'action des essences, quoique un peu moins marquée que pour le bacille de la tuberculose, n'en est pas moins très énergique. Les différences que l'on constate sont évidemment dues à ce que ce dernier est un microorganisme à croissance très lente, tandis que les autres, se développant avec une grande rapidité, ont le temps quelquefois de pulluler avant que les vapeurs aient suffisamment pénétré le terrain nutritif. Il ne faut pas oublier, en effet, que nos terrains de culture n'avaient pas été soumis préalablement à l'action des essences, ainsi que cela était le cas dans les expériences de M. Chamberland. C'est à cela que tiennent, pensons-nous, les différences que l'on constate entre ses résultats et les nôtres. Ainsi, dans notre expérience avec l'essence de cannelle, la bactéridie charbonneuse a pu se développer, tandis que dans celles de M. Chamberland? cette essence avait complétement empêché sa croissance et accusé en général l'action antiseptique la plus énergique de toutes les essences qu'il avait essayées. Dans nos expériences, cette action a été très marquée sur le bacille du choléra.

On remarquera aussi un fait curieux : souvent rien ne croît à la surface, mais il y a alors développement le long de la piqûre ; quelquefois, cependant, la croissance ne commence qu'à partir de 1 cm environ au-dessus de la surface. Certaines essences diffusent donc mieux que d'autres ; c'est là un point qui, dans des essais thérapeutiques, méritera d'attirer l'attention.

On remarquera aussi que la bactéridie est moins sensible à l'action des essences que le bacille cholérique. Celui-ci, en effet, quand il avait crû dans la piqûre, avait néan-

moins perdu la faculté de se reproduire, inoculé dans du bouillon frais; le contact prolongé des vapeurs le tue donc, même au fond de la piqûre. Avec le charbon, au contraire, nous voyons les parcelles de la piqûre (ou de la surface) ensemencées dans du bouillon frais, donner de belles cultures de la bactéridie, sauf dans les expériences où l'on avait employé les essences de lavande et d'eucalyptus.

La bactéridie s'est montrée le plus sensible à l'action des essences de wintergreen, de menthe, d'origanum, de lavande, d'angélique et d'eucalyptus, le bacille du choléra, à celle des essences de cannelle, de wintergreen, de géranium, de lavande, d'angélique et d'eucalyptus. Ces différences ne sont pas faites pour surprendre, on les retrouve quand on emploie d'autres antiseptiques, et MM. Cadéac et Meunier en ont également constaté de pareilles dans leurs expériences sur les bacilles du typhus et de la morve.

En résumé, il est permis d'affirmer que les essences sont douées d'un pouvoir antiseptique et bactéricide marqué, et une étude plus approfondie de leur mode d'action semble promettre d'intéressants résultats.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE *(Suite)*

PAR

Le Dr P. MIQUEL

---

§ II. — Méthodes applicables à l'étude des ferments ammoniacaux.

B. — Caractères physiologiques et physiques des espèces.

On a appris, par mes recherches, qu'il existe deux groupes d'organismes vivants capables de déterminer la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque :

1° Les moisissures,

2° Les schizophytes.

Les moisissures qui possèdent la faculté d'hydrater l'urée feront, prochainement, l'objet d'un mémoire spécial de la part de mon assistant, M. Benoist; je m'occuperai surtout ici des bactéries douées de ce pouvoir biologique.

Dès l'année 1878, j'ai démontré également que, parmi les schizomycètes, deux tribus d'organismes microscopiques pouvaient fournir des ferments de l'urée. En 1863, MM. Pasteur et Van Tieghem ont décrit un micrococcus, agent très actif de l'hydratation de la carbamide, qui a reçu du professeur Cohn, de Breslau, le nom de *Micrococcus ureæ;* tous les expérimentateurs ont, en effet, reconnu l'existence de ce microbe, mais personne n'avait établi avant moi que la tribu des bacilles possédait au moins une espèce présentant la même faculté.

Depuis la date de mes premiers travaux, j'ai rencontré un si grand nombre d'espèces urophages, ou, pour em-

ployer un autre terme, d'urobactéries, que j'ai jugé utile et profitable de les étudier, de les classer et de les différencier au moyen de caractères faciles à mettre en évidence.

Ces caractères sont de deux sortes : physiologiques et physiques.

Parmi les caractères physiologiques, je range, en première ligne, la puissance fermentative ou fermentaire des espèces placées dans des conditions nettement déterminées, puissance qui est intimement liée à leur faculté de sécréter une quantité variable de ferment soluble (1) ; en seconde ligne, les caractères tirés de l'anaérobiose, de la résistance à la chaleur, aux agents chimiques, etc.

Au nombre des caractères purement physiques, ceux qui sont déduits de la forme du microbe doivent évidemment occuper le premier rang, et, après eux, peuvent venir les caractères tirés de l'aspect des liquides altérés, des colonies nées sur les substances solides, etc.

Pouvoir hydratant des ferments. — S'il est un caractère qu'on doive tout d'abord rechercher, c'est bien celui qui nous renseigne sur l'énergie hydratante des microbes, qui peut elle-même être considérée, soit au point de vue de la promptitude de son action, soit sous le rapport de sa puissance. Ici les mots *rapidité* et *puissance* ne doivent pas être confondus comme synonymes. Bien que cela soit assez peu fréquent, un ferment ammoniacal peut accuser une action très rapide, décomposer une certaine quantité d'urée en peu d'heures ou peu de jours, et se montrer im-

(1) Dans le n° de juin des *Annales de Micrographie*, page 415, je déclarais que j'avais infructueusement cherché à isoler le ferment soluble de l'urée. Au commencement de juillet, j'ai pu obtenir cette diastase, et depuis j'ai étudié les conditions où elle peut être préparée en quantité quelconque, en dehors de la fermentation ammoniacale. Le dernier paragraphe du présent travail sera donc consacré à la description de ce ferment inorganisé et à l'énumération des difficultés très réelles que présente son obtention, difficultés que j'avoue n'avoir pu vaincre tout d'abord, et que M. Leube, le savant allemand qui a le mieux étudié les ferments de l'urée, n'a jamais pu surmonter. Il me sera donc possible de consacrer quelques pages au ferment soluble découvert par M. Musculus dans les urines épaisses, filantes et ammoniacales de quelques malades et de compléter son histoire à peine ébauchée.



puissant à en décomposer une quantité équivalente ou supérieure à celle qu'en peut détruire un ferment dont l'action est plus lente, mais plus prolongée.

Il faut donc déterminer dans des conditions identiques la *rapidité* d'action, puis la *capacité* hydratante des ferments ammoniacaux.

Cette étude n'est pas aussi aisée qu'elle paraît tout d'abord, je la considère comme fort délicate ; on va d'ailleurs en juger par ces quelques remarques.

Prélevons dans une urine artificielle fermentée, vieille de deux ou trois jours, et dans une urine artificielle en voie de fermentation depuis quelques heures, le même ferment cultivé à l'état de pureté, que nous ensemençons séparément dans des milieux identiques convenablement stérilisés ; maintenant, suivons d'heure en heure les progrès de la fermentation dans les deux vases. Au bout d'une demi-journée, l'urée d'une des urines, celle qui a été ensemencée avec l'organisme jeune de quelques heures, sera devenue trouble, et toute l'urée aura disparu ; tandis que, dans le vase qui aura reçu le ferment vieux de deux ou trois jours, on ne constatera encore aucun trouble et aucune disparition d'urée ; cela tient, on le comprend aisément, à la lenteur du rajeunissement de l'espèce la plus âgée, vraisemblablement maltraitée par le carbonate d'ammoniaque ; au bout de 24 heures, la fermentation sera également complète dans ce dernier vase. Si nous choisissons comme ferment, à la place du *Bacillus ureæ* ρ, auquel je fais allusion dans l'expérience qui précède, un urococcus ou une sarcine vieille et fraîchement cultivée, le retard dans l'établissement de la fermentation ne sera plus de quelques heures, il pourra atteindre plusieurs jours.

Le calcul de la rapidité d'action d'un ferment ne doit pas avoir pour point de départ le moment de l'ensemencement, mais l'instant où l'action hydratante commence à se manifester. Ce moment ne peut être saisi qu'au moyen de dosages échelonnés toutes les heures, toutes les demi-journées ou tous les jours, suivant qu'on étudie un ferment rapide ou lent. En opérant ainsi, on évite de confondre le temps que demande l'espèce pour éclore et revivre avec le temps qu'elle exige pour accomplir un travail déterminé.

S'il n'était pas tenu un compte rigoureux de cette remarque, le même expérimentateur se trouverait en butte à de nombreuses divergences et à des contradictions constantes qui le gêneraient considérablement dans la détermination de la rapidité d'action des ferments, rapidité, je puis ajouter, qui est fort peu variable chez la même espèce. Donc, *toutes conditions égales, d'ailleurs, la rapidité d'action d'un ferment doit être toujours comptée du moment où la fermentation commence jusqu'au moment où elle finit.*

Dans les milieux chargés d'une faible quantité d'urée, on constate que la fermentation plus ou moins active s'achève brusquement, faute de substances à hydrater; mais, si le milieu renferme des quantités très élevées de carbamide, la fermentation ne s'achève pas et va en déclinant jusqu'à la mort du ferment qui souffre de plus en plus de la quantité sans cesse croissante du carbonate d'ammoniaque mis en liberté; d'où la nécessité de fixer arbitrairement dans ces expériences à une dose assez faible, le poids de l'urée que peuvent être appelés à transformer les ferments dans un temps plus ou moins long, suivant les espèces considérées. Je crois qu'en adoptant la dose de 20 gr. d'urée dissoute dans un litre de bouillon peptonisé à 2 pour 100, et salé à 5 pour 1,000, on se trouve en possession d'un liquide très convenable, pouvant répondre aux exigences les plus nombreuses. Dans une liqueur trop chargée d'urée, plusieurs ferments ne pousseraient pas leur action jusqu'au bout; dans un liquide très peu riche en urée, beaucoup de fermentations se complèteraient avec tant de promptitude, qu'il serait mal aisé d'en suivre la marche.

Je dois dire ici un mot des conditions où je me suis placé pour étudier la rapidité d'action des ferments, ce sera le moyen certain d'éviter tout malentendu.

Dans un vase d'une forme voisine des matras distributeurs de M. Pasteur, mais à capuchon rôdé sur la tubulure centrale laissée verticale, et pourvu d'une longue pointe effilée mobile sur la tubulure latérale, j'introduis 250 cmc d'urine normale ou artificielle qu'on stérilise à 110°. Ce vase à moitié plein, une fois refroidi, on l'ensemence avec quelques gouttes d'une culture féconde, on replace le capuchon, et immédiatement après on procède

au dosage de la quantité d'urée, c'est le point de repère qui donne la richesse en urée de la liqueur avant le développement et l'action du ferment. Pour un second, un troisième dosage, etc., on casse la pointe capillaire, on extrait la quantité de liquide nécessaire à l'analyse, et on scelle de nouveau cette pointe après l'avoir purgée de liquide en soufflant légèrement par la cheminée du capuchon toujours munie d'une bourre de ouate. L'urine est placée à 30°, et reste toujours au contact de l'air atmosphérique. Au fur et à mesure qu'il se produit du carbonate d'ammoniaque, une partie de ce sel se transforme en sesqui et bicarbonate d'ammoniaque, et se volatilise partiellement; cependant, je dois ajouter que ce phénomène s'accomplit avec une certaine lenteur ; en dix jours, une urine complètement fermentée perd environ le quart de son ammoniaque, en un mois le tiers, en trois mois la moitié, en six mois les deux tiers ou les trois quarts, et cela à la température de 30°.

La détermination de la puissance d'action d'un ferment semble beaucoup plus facile à établir; en effet, il s'agit ici de calculer uniquement le poids d'urée qu'il est capable d'hydrater dans des conditions données, indépendamment du temps employé à cette hydratation; cependant, nous devons encore ici présenter quelques observations.

La capacité fermentative ou fermentaire des ferments figurés de l'urée doit-elle être évaluée dans des liquides retenant tout le carbonate d'ammoniaque résultant de la décomposition de la carbamide, ou doit-on la calculer d'après des expériences effectuées dans des vases communiquant largement ou faiblement avec l'atmosphère ambiante, ce qui permet toujours la disposition d'une quantité notable de sel caustique produit? Pour ma part, je crois que cette capacité doit être calculée en présence de la substance toxique mise en liberté, comme on calcule le pouvoir fermentatif d'une levûre en présence de l'alcool dont elle a déterminé la formation, et qui agit sur elle de tout son pouvoir antiseptique; mieux une espèce résiste à un auto-empoisonnement de ce genre, et plus grande il me semble, est sa capacité fermentative. Evidemment, rien

de rigoureux ne peut être formulé à cet égard, mais je dois faire connaître les conditions où je me suis placé.

Pour mesurer le pouvoir fermentatif des organismes qui nous occupent, je me suis servi d'urines artificielles exactement dosées, contenues dans des vases hermétiquement scellés à la lampe, en prenant toute fois la précaution de laisser aux espèces aérobies assez d'oxygène pour suffire à leur nutrition.

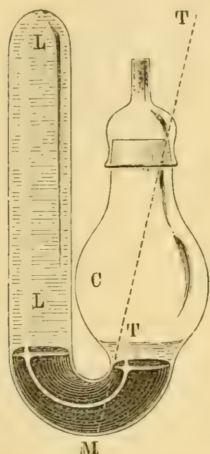


Fig. 2. — LL, liquide ou gélatine dédésoxygénés tenus à l'abri du contact de l'air par le mercure M ; — C, grande ampoule de l'appareil ; — T, couche de liquide ou de gélée pour culture aérobie ; — TM, ligne ponctuée indiquant la direction des pipettes ou des crochets de platine destinés aux prélèvements ou aux inoculations.

Les expériences commencées avec des urines titrant 20 gr. d'urée par litre, ont été continuées pour les espèces fortement urophages avec des liquides chargés de 40, 50, 80, 100 et 150 gr. d'urée par 1,000 cmc. Dans ces recherches où il est fait abstraction du temps, il est nécessaire et même indispensable, pour obtenir exactement la quantité d'urée transformée, de pratiquer ces essais en triples s et quadruples séries, et de soumettre les liquides altérés à l'analyse à quelques semaines d'intervalle. La constance dans les résultats obtenus montre si la limite trouvée tout d'abord est bien exacte.

Anaérobiose. — Il reste ensuite à établir si les espèces considérées sont aérobies ou anaréobies, ou capables de se développer indifféremment à l'abri ou au contact de l'air, propriété que l'on a appelée *anaérobiose* facultative. Les laboratoires de micrographie sont pourvus d'appareils construits dans ce but. L'instrument susceptible de donner les résultats les plus exacts est le vase scellé à demi-plein de liquide stérilisé, bouilli dans le vide, ensemencé, ensuite vidé à plusieurs reprises par la pompe à mercure, et finalement rempli d'un gaz inerte tel que l'azote. Ces opérations exigent évidem-

ment des soins, et demandent un certain temps, mais elles n'offrent aucune difficulté pratique à ceux qui ont fait précéder leur éducation micrographique d'un apprentissage des manipulations chimiques les plus usuelles. Cependant, préoccupé de gagner du temps et de simplifier les cultures anaérobies, j'ai fait construire par M. Alvergniat quelques petits appareils qu'on peut utiliser dans ce but. Les fig. 2 et 3 représentent ces instruments dont les avantages sont de permettre d'opérer à l'abri de l'air, de recueillir le gaz résultant de la nutrition des microbes, et d'effectuer les cultures au contact de différents gaz.

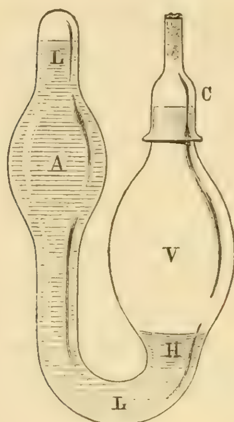


Fig. 3. — C, Capuchon rôdé; — V, grande ampoule; — H, couche préservatrice d'huile ou d'hydrocarbure liquide ou solide; — L L, milieu nutritif maintenu à l'abri de l'air; — A, petite ampoule.

Ces appareils consistent en tubes en U, diversement soufflés et munis à l'extrémité ouverte d'un capuchon rôdé tubulé ; quelles que soient la forme et les dimensions de la branche fermée, l'ampoule soufflée, située du côté de ce capuchon, doit posséder un volume tel qu'elle puisse contenir amplement tout le liquide placé dans la branche ouverte de l'appareil.

Ces tubes remplis de bouillon, d'urine ou de gelée, jusqu'à la naissance inférieure de l'ampoule soufflée sur la branche ouverte, sont portés à l'autoclave pendant une heure, en ayant soin de chasser tout l'air de cet appareil stérilisateur par un jet de vapeur prolongé pendant 20 à 30 minutes. Durant cette opération, le liquide descend des branches fermées des tubes, passe dans les renflements des branches ouvertes, perd son air dissout, et remonte désoxygéné dans les branches fermées pendant le refroidissement et le rétablissement de la pression atmosphérique dans l'autoclave. Pendant que le liquide des appareils est encore entre 60 et 70°, on introduit, après avoir ôté le capuchon, au moyen de pipettes purgées de germes, soit

du mercure métallique très pur stérilisé, soit de l'huile, des corps gras ou des hydrocarbures fondus portés préalablement à 150°; si on veut éviter la rentrée de quelques bulles d'air, le mercure métallique doit être versé avec les plus grandes précautions, au moyen de pipettes à pointe capillaire recourbée en haut et plongeant entièrement dans le liquide.

Quand ces manipulations, d'ailleurs fort aisées, sont bien conduites, la quantité d'oxygène retenue par les liquides ainsi stérilisés n'est pas appréciable aux réactifs chimiques. Si elles sont moins bien exécutées, en dehors de la rentrée accidentelle de l'air, à laquelle il n'est pas fait ici allusion, on voit, avant que le tube soit complètement refroidi, une petite bulle gazeuse de la grosseur d'une tête d'épingle persister quelque temps au sommet de la branche fermée, puis disparaître le lendemain, autrement dit, se dissoudre complètement dans le liquide. A tout prendre, même dans ce dernier cas, le liquide garde à peine en solution quelques millimètres cubes d'oxygène par litre.

Le mercure, mis à basse température au contact de beaucoup de cultures, ne paraît pas exercer sur le développement des microbes une action néfaste bien appréciable; cependant, ce métal n'est pas toujours doué d'un pouvoir antiseptique inactif; au contraire, son voisinage peut être fort gênant pour le développement et surtout l'éclosion de certains germes fragiles, semés en faible nombre. En tout cas, il se prête bien, je puis l'affirmer, aux expériences sur les fermentations ammoniacales, qui, à son contact, débutent, se poursuivent et s'achèvent sans subir d'influence entravante. Il serait pourtant désirable que l'on pût trouver, pour le fonctionnement rigoureux et irréprochable de mes nouveaux appareils, une substance liquide, inaltérable, beaucoup plus dense que les bouillons, les gelées, et complètement insoluble dans ces milieux; car, en dehors des composés toxiques que le mercure peut former avec le chlorure de sodium et d'autres sels, je ne suis pas certain que les vapeurs sensibles qu'il émet à 30° soient insolubles dans les liquides, plusieurs observations me sembleraient démontrer qu'elles le sont. Enfin, si l'on

a, à cet égard, quelques scrupules, on n'emploiera le mercure que le plus rarement possible, et on aura recours aux huiles, aux corps gras, aux pétroles parfaitement raffinés, à des mélanges fusibles paraffinés. Je dois néanmoins déclarer que si les huiles et les corps gras peuvent rendre des services pour les cultures des ferments ammoniacaux, dans les bouillons et les milieux où il n'y a pas production bien sensible d'ammoniaque, ces corps ne valent rien pour l'étude des fermentations très actives : l'huile, les graisses, le beurre, se saponifient rapidement et absorbent une partie de l'ammoniaque produit ; il n'en est pas de même de la vaseline pure ou paraffinée, des huiles lourdes de pétrole débarrassées de tout produit étranger, et ramenées à l'état d'hydrures de carbone ; pour ma part, dans ces cultures à l'abri de l'air, j'accorde la préférence aux substances protectrices, demi-solides comme la vaseline, qui se laissent aisément traverser par des pointes de verre capillaires, au moyen desquels on pratique les inoculations ; pour faire disparaître le canal laissé par la pointe, et soustraire le liquide au contact ultérieur de l'atmosphère, il suffit d'approcher de la surface de la vaseline, au voisinage de l'endroit où a eu lieu la perforation, une tige de fer chaude, la vaseline fond en cupules, et l'obturation devient parfaite. Avec des cultures ainsi pratiquées, on peut, au moyen de pipettes stérilisées convenablement recourbées, étudier les organismes à tous les instants de la vie anaérobienne, recueillir les gaz produits, opérer des ensemencements secondaires, intoxiquer les cultures, soit au moyen de substances liquides ou gazeuses, etc.... Quelques heures de pratique avec ces appareils en enseigneront bien plus que toutes les descriptions que je pourrai donner.

Il existe encore un appareil beaucoup plus simple pour cultiver les espèces à l'abri du contact de l'oxygène de l'air, et, comme les précédents, il donne d'excellents résultats. Il consiste en un tube à essais étranglé à sa partie supérieur (voir fig. 4) ; ce tube est complètement rempli de substance nutritive L, jusqu'au haut de l'effilure, puis stérilisé à 110° ; avant refroidissement complet, on dépose à sa surface en C une couche de vaseline fusible vers 40°.

Pour opérer les ensemencements, on enlève le tampon T, et, au moyen de pipettes à tube capillaire, on inocule la substance nutritive. En passant très légèrement par la flamme la couche fusible C, on obtient de nouveau l'occlusion complète qu'on peut rendre encore plus parfaite en versant sur la couche C un centimètre de mercure. Je recommande ces instruments peu coûteux et d'un maniement très facile à ceux qui sont appelés à faire de nombreuses cultures à l'abri de l'air.



Fig. 4. — L, liquide ou *substratum* solide désoxygénés; — C, couche grasse ou hydrocarburée isolante; — T, tampon de coton.

Résistance des ferments aux agents physiques et chimiques. — Comme agent physique dont l'action est la plus importante à étudier sur les ferments ammoniacaux, la température me paraît devoir être considérée tout d'abord; c'est avec son secours qu'on arrive aisément à séparer plusieurs espèces, et, plus tard, à établir les limites de température entre lesquelles leur vie est possible. Les caractères qui peuvent naître de ces observations sont d'autant plus précieux que la chaleur est un agent facile à manier, et toujours identique à lui-même, dans les mains des expérimentateurs.

Pour déterminer le degré de chaleur fatal à une espèce et à ses germes, j'emploie toujours un procédé décrit dans l'*Annuaire de Montsouris* pour l'an 1881, et qui consiste à diluer quelques gouttes d'une culture récente dans 10 cmc. d'eau distillée stérilisée, puis à introduire cette eau infestée dans 8 ou 10 ampoules de verre effilées en pointe aux deux extrémités, qu'on scelle aux deux bouts et qu'on immerge complètement pendant *deux* heures dans un bain parfaitement réglé; cela fait, l'eau chauffée des ampoules est distribuée dans des conserves stériles,

où le rajeunissement des germes est suivi durant un mois d'incubation à l'étuve portée à 30°. J'emploie des ampoules d'un très faible volume, de 0 ^{cmc} 5 environ, et, pour les ferments qui nous occupent ici, je prélève, toutes les fois que cela est possible, la culture destinée à être chauffée dans le bouillon fécondé par les ferments de l'urée ; enfin le rajeunissement est tenté dans du bouillon peptonisé chargé de 20 pour 1.000 de carbamide (urine artificielle).

Si l'on prélevait les germes à soumettre à l'action de la chaleur dans des urines déjà fermentées, en dehors du carbonate d'ammoniaque qu'on introduirait dans l'eau distillée servant à la dilution, et dont l'action toxique n'est pas à négliger, on s'exposerait à expérimenter sur des organismes déjà affaiblis, et, par conséquent, d'une résistance moindre.

Comme agents chimiques, on pourra essayer l'action des antiseptiques connus sur les ferments ammoniacaux, cette étude complémentaire n'offrira jamais un bien grand intérêt, car nous retirons au point de vue agricole un trop grand bénéfice de l'action prompte et complète de ces microoganismes pour chercher à l'entraver ; au point de vue de l'hygiène, quelques seaux d'eau chargée d'un peu d'acide chlorhydrique, suffiront pour nous débarrasser de l'odeur désagréable que ces ferments peuvent déterminer dans les urinoirs et les cabinets d'aisance trop négligés. Cependant, je reconnais qu'il existe en médecine un cas où l'étude des substances antiseptiques sur les urobactéries peut rendre service, c'est celui où il s'agit de désinfecter la vessie des malades atteints d'ammoniurie ; l'expérience a montré à M. le professeur Guyon, si ma mémoire est fidèle, que les injections intravésicales d'acide borique à 2 à 3 p. 100 étaient des plus efficaces et des plus inoffensives, quoi qu'il en soit de nouvelles expériences sur ce sujet, peuvent venir en aide aux praticiens, j'ai eu soin de les pratiquer.

Caractères physiques des ferments. — La forme, les dimensions, la mobilité, l'immobilité, les variations morphologiques ou pléomorphiques, doivent nécessairement être décrites dans les recherches sur les bactéries; l'aspect ma-

croscopique des cultures des espèces urophages, est également importante à signaler, car les unes déterminent dans le bouillon ou les urines tantôt un trouble permanent, tantôt passager, souvent l'on voit le liquide se clarifier dès les second et troisième jour de culture, et l'espèce se précipiter au fond du vase, bien avant que la fermentation soit achevée; néanmoins, on constate qu'elle continue très activement alors qu'on pourrait supposer qu'il y a eu destruction brusque ou affaiblissement de la bactérie. D'autres cultures dans le bouillon et l'urine ne sont le siège d'aucun trouble, le microbe se développant lentement dans la partie inférieure ou sur les parois latérales des vases. La configuration des colonies inoculées sur les gélatines nutritives, contenant ou non de l'urée, méritera d'être décrite; on signalera de même des cas où l'espèce jouit de la faculté de liquéfier ces *substrata*, la couleur des colonies, l'aspect des cultures vieilles ou récentes, le mode de leur développement peuvent encore intéresser et venir joindre des faits particuliers aux propriétés physiologiques, pour caractériser complètement les diverses espèces urophages. Je ne m'étendrai pas plus longuement sur ce dernier sujet, car j'attache une importance très secondaire à ces caractères macroscopiques.

C. — Terminologie et classification des ferments de l'urée.

Les bactériens agents de l'hydratation de l'urée doivent naturellement être rangés dans les grandes tribus admises aujourd'hui chez les schizomycètes, et se répartir en bacilles, coccus, sarcines, etc. Cependant, pour distinguer immédiatement ces microbes de leurs congénères, je propose de les désigner sous l'expression générale d'*urobactéries*, de même qu'on a appelé *sulfobactéries*, tout un groupe d'algues inférieures, jouissant de la faculté d'oxyder le soufre ; comme résultat de cette désignation, les bacilles de l'urée peuvent recevoir le nom d'urobacilles, les micrococcus de l'urée, d'urocoques, etc. En effet, tant qu'on n'avait signalé que l'existence d'un bacille et d'un micrococcus ferments de la carbamide, il ne pouvait exister de

doute sur l'espèce en vue, mais aujourd'hui les mots *Micrococcus ureæ*, *Bacillus ureæ*, n'ont pas de signification précise, ces termes sont devenus vagues et peuvent s'appliquer à toute une catégorie de microbes. Le préfixe *uro* a le grand avantage de supprimer le qualificatif *ureæ*, d'indiquer au lecteur une des fonctions les plus essentielles du microbe, et d'abréger en même temps le nombre de mots employés pour le désigner. Quant aux termes appelés à suivre les expressions génériques pour compléter le nom de la bactérie, doit-on, à l'exemple de quelques auteurs, les tirer les caractères macroscopiques que présente la culture de l'organisme, soit dans le bouillon, soit dans la gélatine, ou encore de la couleur des colonies ? Je ne le pense pas, car cette désignation peut devenir rapidement insuffisante. En effet, pour choisir un exemple dans le sujet même qui nous occupe, M. Flügge parle d'un *Micrococcus ureæ liquefaciens*. Je connais actuellement trois *Micrococcus ureæ*, qui jouissent tous de la faculté de liquéfier la gélatine ; en adoptant l'expression déjà très longue de cet auteur, on se trouve dans la nécessité de choisir un troisième qualificatif ; si on l'avait par hasard tiré de la couleur jaune, *Micrococcus luteus ureæ liquefaciens*, ce choix serait malheureux, car deux de ces *Micrococcus ureæ liquefaciens* sont jaunes, ce qui obligerait encore le bactériologue à chercher un quatrième caractère physique. L'on doit, il me semble, éviter de créer ces mots interminables, bien que leurs partisans puissent objecter que ces termes multiples ont au moins l'avantage de faire connaître immédiatement plusieurs caractères physiques et physiologiques de l'espèce. Je sais qu'en chimie il en est quelquefois ainsi, et l'un de mes regrets est d'avoir participé à en créer quelques-uns, comme le *benzoyléthyloxysulfocarbamate d'éthyle*, même dans cette science où les mots indiquent souvent la constitution des corps, on s'efforce aujourd'hui à créer des expressions d'un faible nombre de syllabes ; en micrographie cela offre bien moins de difficultés.

Dès le début de mes recherches sur l'hydratation de l'urée par les organismes microscopiques, j'ai désigné par des lettres grecques et des chiffres romains les diverses

espèces de bacilles et de micrococcus qui me sont tombés sous les mains; ces désignations ne manquent pas de simplicité et de commodité; mais pour des lecteurs qui n'ont pas eu sous les yeux, pendant des mois ou des années, les microbes auxquels elles s'appliquent, cette nomenclature est beaucoup trop brève et trop difficile à retenir; c'est pour ces divers motifs que j'estime plus simple à tous les points de vue de choisir, pour les espèces microscopiques, un qualificatif invariable qui ne puisse devenir commun à plusieurs d'entre elles. Les noms propres sont dans ce cas, et il ne manque pas de bactériologues distingués auxquels ces divers microorganismes puissent être dédiés; de leur côté, ces savants devront accepter avec résignation la torture à laquelle on devra soumettre leur nom pour parvenir à le latiniser plus ou moins convenablement. Depuis longtemps, ce mode de terminologie est, d'ailleurs, passé dans les habitudes des algologues, et la plupart des diatomées ont reçu des baptêmes de ce genre.

Voici maintenant le cadre général où l'on peut faire entrer, du moins provisoirement, les divers microphytes urophages.

FERMENTS DE L'URÉE	1° Champignons urophages.	
	2° Bactériens urophages....	urobacilles. urococques. ⋮ urosarcines.

Ces préliminaires connus, je puis maintenant aborder la description des schizomycètes ferments de l'urée; je commencerai par étudier celui qui me paraît le plus remarquable, l'*Urobacillus Pasteurii,* que je dédie au savant français qui a le premier démontré que la fermentation ammoniacale était due à la multiplication des cellules vivantes, et à qui la microbiologie est redevable d'un si grand nombre d'immortelles découvertes.

(A suivre).

LES LABORATOIRES DE MICROGRAPHIE

A L'EXPOSITION UNIVERSELLE DE 1889 *(Suite)*

VI. — Laboratoire de micrographie de l'Observatoire municipal de Montsouris.

Le laboratoire du docteur Miquel est situé dans le pavillon n° 2 de la ville de Paris, et se trouve placé symétriquement à celui de M. Albert-Lévy, chef du service chimique de l'Observatoire de Montsouris. Ces deux installations sont dans la grande salle occupée par les belles expositions du service des eaux et de l'assainissement. Nous regrettons que la nature des sujets abordés dans ce journal ne nous permette pas de faire une incursion dans le domaine de la chimie des eaux et de l'atmosphère ; les appareils simples, élégants et pratiques employés par M. Albert-Lévy dans ses travaux, mériteraient une longue description ; à défaut de la pouvoir faire ici, nous engageons vivement le visiteur à s'arrêter devant le laboratoire de chimie de l'Observatoire, dont l'examen lui sera assurément très profitable.

M. Miquel expose d'abord plusieurs trompes à eau, à double et à triple effet, destinées à aspirer uniformément l'air durant une période de temps indéterminée. Au voisinage de ces instruments se trouve une grande trompe à vapeur capable de déterminer un appel d'air de 12,000 litres à l'heure, et plus particulièrement affectée aux analyses qualitatives des poussières atmosphériques; une trompe portative construite sur le même principe ,est également placée sous les yeux des visiteurs et représente fidèlement la trompe dont s'est servi M. de Freudenreich pour analyser l'air des hautes altitudes.

Les appareils nommés *aéroscopes* sont très complète-

ment représentés dans cette exposition : nous apercevons l'aéroscope simple à aspiration, destiné à collecter par le moyen d'un courant d'air les poussières atmosphériques sur une lame de verre mince ; un aéroscope marin, un aéroscope à girouette, dont le principe a été étudié et donné pour la première fois par le docteur Maddox, cet instrument fonctionne automatiquement sous la seule influence du vent. Viennent ensuite les aéroscopes enregistreurs des spores cryptogamiques de l'atmosphère : le plus ancien est formé d'un mouvement d'horlogerie capable d'entraîner, au moyen d'une vis, un chariot supportant une lame porte-objet graduée suivant les 24 heures du jour, sur laquelle les poussières viennent méthodiquement se fixer. L'aéroscope le plus récent, à disque de verre gradué, nous paraît beaucoup plus pratique ; un microscope placé au voisinage de ce petit appareil a été spécialement construit par M. Nachet pour relever les résultats de ces sortes d'analyses ; nous signalerons encore comme basés sur le même principe d'autres aéroscopes pouvant enregistrer sur des rondelles de carton les poussières brutes de l'atmosphère. Enfin, sous le nom d'*aéroscope enregistreur universel*, M. Miquel présente les modèles de deux instruments susceptibles de fournir simultanément les variations des poussières brutes de l'air, des spores cryptogamiques et des germes des bactéries.

Pour doser les bactéries atmosphériques, on emploie deux méthodes à l'Observatoire de Montsouris ; l'une consiste à amener les poussières de l'air dans des appareils barbotteurs d'un modèle spécial, permettant de retenir tous les corpuscules aériens, et de répartir ensuite cette eau contaminée dans des conserves renfermant des substances nutritives ; l'autre est basée sur le pouvoir filtrant des substances pulvérisées tel que le coton de verre, le verre concassé, le sable, et parmi les substances solubles : le sulfate de soude, le sucre, le phosphate de soude, etc. Ces substances sont placées dans des tubes de verre à capuchon rôdé. A côté de ces instruments nous apercevons les pipettes et vases divers utilisés dans ces sortes d'analyses ; signalons de même quelques boîtes de forme identique aux boîtes à réactifs renfermant un modèle élégant de fla-

cons étroits à capuchon rôdé, pour conserver les spécimens des divers microbes.

Les appareils enregistreurs des bactéries, dont le premier modèle fut exposé dans les galeries de South Kensington, à l'exposition internationale d'hygiène de Londres en 1884, et l'enregistreur sur bande de papier liché né présenté aux visiteurs à l'exposition d'hygiène de 1886, due à l'initiative de la Société de médecine publique et d'hygiène professionnelle, sont aujourd'hui remplacés par un enregistreur à disque circulaire de Bristol enduit de gelées sèches susceptibles de gonfler et de récupérer leur faculté nutritive après la fixation des poussières; cet appareil, de 0^m 20 de diamètre, est muni d'un mouvement d'horlogerie pouvant accomplir un tour complet en 24 heures ou en sept jours; les bactéries écloses sur ces disques de gelée sont finalement colorées au moyen de l'indigo et de quelques autres réactifs. Citons en passant l'exposition spéciale dans une vitrine de tous les instruments de verrerie employés à l'Observatoire, ainsi que plusieurs modèles de microscopes de MM. Nachet et Vérick.

Dans la section relative à l'analyse microscopique des eaux, mentionnons d'abord les appareils à glace pour le transport de ces liquides du lieu du prélèvement au laboratoire, les modèles des flacons de puisage, les divers vases employés pour les dilutions, les pipettes distributrices, etc.; enfin un pluviomètre stérilisable pour récolter les eaux météoriques.

M. Miquel présente en outre de nombreux modèles de chambres humides, des vases à culture aérobie et anaérobie, une grande étude d'Arsonval à porte-vitrée, un autoclave grand modèle; ces deux derniers instruments sortis de la maison Wiesnegg, de Paris. Nous apercevons également un appareil filtrateur à haute pression construit par Golaz, et enfin une vaste étuve pour cultures bactériennes munie d'un thermo-régulateur métallique et de caisses réfrigérantes. Cette étuve renferme une quantité considérable de conserves diverses, et une collection nombreuse des microbes de l'air, du sol et des eaux.

Parmi les documents exposés, nous trouvons la série des annuaires de Montsouris depuis l'année de 1878, et

douze tableaux muraux contenant de nombreux diagrammes, parmi lesquels : le diagramme des variations hebdomadaires de spores cryptogamiques, relatant l'influence de la température et de la pluie sur les spores aériennes de ces microphytes ; les courbes des variations hebdomadaires des bactéries atmosphériques obtenues au parc de Montsouris et au centre de Paris ; les courbes des variations horaires des bactéries de l'air ; les diagrammes indiquant l'influence de la direction du vent sur la richesse de l'atmosphère en bactéries aux deux stations principales de l'Observatoire. Parmi les diagrammes relatifs aux richesses des eaux en microbes, nous signalerons ceux qui ont rapport aux variations hebdomadaires et mensuelles des eaux de la Vanne, de la Dhuis, des eaux de la Seine prélevées à Ivry, Austerlitz et Chaillot ; les diagrammes présentant la pureté relative en bactéries des eaux de plusieurs villes de France, des puits de Paris, des eaux d'égouts et de vidanges, etc. Cette exposition offre à notre avis de nombreux documents utiles à consulter, elle montre que le chemin parcouru dans la voie difficile de l'étude générale des organismes microscopiques de l'air et des eaux est déjà considérable, et nous fait présager que ces études de micrographie poursuivies, avec la persévérance dont M. Miquel a fait jusqu'ici preuve, continueront à fournir un ensemble de résultats très profitables à l'une des branches importantes de l'hygiène.



REVUES ET ANALYSES[1]

Dr Julius Heller — **Contribution à la connaissance du champignon musqué** *(Fusisporium moschatum). (Centralblatt für Baktériologie und Parasit.*, VI Bd., n° 4., Juli 1889, s. 97-105. Fig. 1-3).

Le *Fusisporium moschatum* découvert par Kitasato appartient à la famille des Mucédinées; il est caractérisé surtout par la propriété qu'il possède d'exhaler une forte odeur de musc. L'auteur l'a trouvé sur une ancienne préparation microscopique desséchée et l'a cultivé sur la gélatine, la pomme de terre et dans le bouillon.

L'aspect microscopique varie selon le milieu de culture. Dans le bouillon, il présente l'apparence de masses flottantes grisâtres. Sur la pomme de terre, les colonies en forme de filaments étoilés sont d'abord blanches, mais prennent peu à peu une délicate couleur rose et enfin une couleur rouge vermillon. Sur la gélatine comme sur l'agar-agar les colonies de 3 ou 4 jours paraissent comme des taches opaques formées de fins filaments enchevêtrés. Blanchâtre sur ses bords, la culture prend peu à peu la couleur rouge à son centre.

Les spores sont en forme de croissant avec des vacuoles claires et des globules gras. Elles mesurent environ 20 μ de long sur 1-3 μ de large.

La température la plus favorable au développement de cet organisme est celle de 15° c. Il est nettement aérobie.

Un centimètre cube de bouillon injecté sous la peau du dos d'une grenouille, et contenant le *Fusisporium*, donne lieu après 24 heures à un gonflement local. La mort survient après 3 ou 4 semaines et l'on trouve des spores dans la masse demi-solide formée au lieu d'injection, ainsi que dans le sang du foie, de la rate, du rein et du cœur, mais non dans les tissus.

F. D.

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de Micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception aux bureaux du journal.

Bütschli. — **Protozoa,** livr. 56-61, p. 1745-1920, pl. LXXVI-LXXIX.

Ces livraisons contiennent la fin des Infusoires ciliés et une grande partie des Tentaculifères. Nous nous occuperons aujourd'hui de la nouvelle classification des Ciliés proposée par l'auteur, et dont nous avions annoncé le tableau résumé.

En tête de sa classification, le professeur Bütschli place quelques genres douteux, *Multicilia* Cienk., *Grassia* Fisch. et quelques autres, puis il passe aux Ciliés proprement dits.

Ordre I. — Gymnostomata. Bütschli.

1re Famille Enchelina	1re Sous-Famille *Holophryina*	Holophrya Urotricha Enchelys Spathidium Chœnia Prorodon Dinophrya Lacrymaria S. G. Lagynus S. G. Trachelophyllum
	2e Sous-Famille *Actinobolina*	Actinobolus Ileonema
	3e Sous-Famille *Colepina*	Plagiopogon Coleps Tiarina Stephanopogon
	4e Sous-Famille *Cyclodinina*	Didinium Mesodinium Pompholyxia
	5e Sous-Famille *Prorotrichina*	Bütschlia
2e Famille Trachelina	1re Sous-Famille *Amphileptina*	Amphileptus Lionotus Loxophyllum Trachelius Dileptus
	2e Sous-Famille *Loxodina*	Loxodes
3e Famille Chlamydodonta	1re Sous-Famille *Nassulina*	Nassula
	2e Sous-Famille *Chilodontina*	Orthodon Chilodon Chlamydodon Opisthodon Phascolodon Scaphidiodon
	3e Sous-Famille *Erviliina*	Ægyria Onychodactylus Trochilia Dysteria

Ordre II. — TRICHOSTOMATA. BUTSCHLI.

- 1er Sous-Ordre **Aspirotricha**
  - 1re Famille CHILIFERA
    - Leucophrys
    - Glaucoma
    - Dallaria
    - Frontonia
    - Ophryoglena
    - Colpidum
    - Chasmatostoma
    - Uronema
    - Urozona
    - Loxocephalus
    - Colpoda
  - 2e Famille MICROTHORACINA
    - Cinetochelium
    - Microthorax
    - Ptychostomum
    - Ancistrum
    - Drepanomonas
  - 3e Famille PARAMECINA
    - Paramœcium
  - 4e Famille UROCENTRINA
    - Urocentrum
  - 5e Famille PLEURONEMINA
    - Lembadion
    - Pleuronema
    - S. g. Cyclidium.
    - Calyptotricha
    - Lembus
    - Anophrys
  - 6e Famille ISOTRICHINA
    - Isotricha
    - Dasytricha
  - 7e Famille OPALINA
    - Anoplophrya
    - Hoplitophrya
    - Discophrya
    - Opalinopsis
    - Opalina
- 2e Sous-Ordre **Spirotricha**
  - 1re Section HETEROTRICHA
    - 1re Famille PLAGIOTOMINA
      - Concophtirius
      - Plagiotoma
      - S. g. Nyctotherus
      - S. g. Plagiotoma
      - Blepharisma
      - Metopus
      - Spirostomum
    - 2e Famille BURSARINA
      - Balantidium
      - Balantidiopsis
      - Condylostoma
      - Bursaria
    - 3e Famille STENTORINA
      - Climacostomum
      - Stentor
      - Folliculina
    - 4e Famille GYROCORINA
      - Cœnomorpha

2e Sous-ordre Spirotricha *(Suite)*

- 2e Section **OLIGOTRICHA**
  - 1re Famille LIEBERKUHNINA
  - 2e Famille HALTERINA
    - Strombidium
    - Halteria
  - 3e Famille TINTINNOINA
    - Tintinnidium
    - Tintinnus
    - Tintinnopsis
    - Codonella
    - Dictyocysta
  - 4e Famille OPHRYOSCOLECINA
    - Ontodinium
    - Diplodinium
    - Ophryoscolex
  - *Appendice :* Maryna
- 3e Section **HYPOTRICHA**
  - 1re Famille PERITROMINA
    - Peritromus
  - 2e Famille OXYTRICHINA
    - 1re Sous-Famille *Urostylinæ*
      - Trichogaster
      - Urostyla
      - Kerona
      - Epiclintes
      - Stichotricha
      - Strongylidium
      - Holosticha
      - Amphisia
      - Uroleptus
      - Sparotricha
    - 2e Sous-Famille *Pleurotrichina*
      - Onichodromus
      - Pleurotricha
      - Gastrostyla
      - Gonostomum
      - Urosoma
      - Oxytricha
      - Stylonichia
      - S. g. Histrio
      - Actinotricha
    - 3e Sous-Famille *Psilotrichina*
      - Balladina
      - Psilotricha
  - 3e Famille EUPLOTINA
    - Euplotes
    - S. g. Certesia
    - Diophrys
    - Uronychia
  - 4e Famille ASPIDISCINA
    - Aspidisca
- 4e Section **PERITRICHA**
  - 1re Famille SPIROCHONINA
    - Spirochona
  - 2e Famille LICNOPHORINA
    - Licnophora
  - 3e Famille VORTICELLINA
    - 1re Sous-Famille *Urceolarina*
      - Trichodina
      - Cyclochæta
      - Trichodinopsis

Sous-Ordre	Section	Famille	Sous-Famille	Tribu	Genres
2e Sous-Ordre **Spirotricha** *(Suite)*	4e Section PERITRICHA *(Suite)*	3e Famille VORTICELLINA *(Suite)*	2e Sous-Famille *Vorticellidina*	1re Tribu Scyphidina	Scyphidia, Gerda, Astylozoon
				2e Tribu Contractilia	Vorticella, Carchesium, Zoothammium
				3e Tribu Acontractilia	Glossatella, Epistylis, Rabdostyla, Opercularia, Ophrydium
				4e Tribu Cathurinina	Cothurnia, Sg. Cothurniopsis, Vaginicola
			3e Sous-Famille *Lagenophryna*		Lagenophrys

APPENDICE AUX CILIÉS

TRICHONYMPHIDÆ	Lophomanas, Jœnia, Trichomympha, Pyrsonympha, Dinenympha

Ainsi qu'on peut le voir en jetant un coup d'œil sur ce tableau, Bütschli divise les Infusoires ciliés en deux grands ordres, les Gymnostomata et les Trichostomata. Le premier comprend tous les Infusoires dont la bouche est dépourvue d'appendices extérieurs ou de membranes; tous les Ciliés qui possèdent, au contraire, ce caractère, rentrent dans le 2e ordre des Trichostomata. Pour former son premier ordre, l'auteur n'a eu qu'à éliminer des Holotriches de Stein un certain nombre de genres et à y ajouter quelques Hypotriches, tels que les Chilodontina, qui sont en effet plus voisins des Nassules que des Oxytrichides. Quant à l'ordre des Trichostomata, il correspond, sauf quelques modifications de détail, aux quatre grands groupes de Stein. Bütschli s'est contenté d'y adapter les genres nouveaux découverts depuis l'apparition de l'*Organismus*.

F. D.

Dr AUGUST SCHUBERG. — **Sur la « Grassia ranarum Fisch »** (*Biologischen Centralblatt.*, Bd. IX n° 9, 1er Juillêt 1889).

Découvert en 1881 par Grassi, étudié quelques années plus tard par Fisch, l'organisme qui fait l'objet de cette note, et qui jusqu'ici avait été considéré comme un infusoire flagellé, ne serait, d'après l'auteur, que des débris de cellules épithéliales arrachés des parois

de l'œsophage ou du pharynx de la grenouille. Le Dr Schuberg l'a trouvé non seulement dans l'intérieur de ces organes, mais aussi dans le poumon et dans le péricarde, et les figures de Grassi, comme celles de Fisch, laissent clairement voir que c'est la même forme qu'ils ont observée. Toutefois, la ciliation, ainsi que la présence de vacuoles contractiles, auraient été mal vues de ces derniers. D'après le Dr Schuberg, le corps ne serait point complètement cilié, mais présenterait des places libres de toute ciliation ; les vacuoles contractiles n'existeraient pas et Fisch, qui les a décrites, aurait considéré comme telles des vacuoles très petites, difficiles à observer, qui auraient pu, à un moment donné, échapper à sa vue et occasionner ainsi son erreur.

Tous les organes de la grenouille qui portent un épithélium à cils vibratiles donnent, par le raclage, des *Grassia*, et la taille de ceux-ci varie selon la grosseur des éléments épithéliaux.

Cette erreur de Grassi et de Fisch est de même ordre que celles de O. Fr. Müller, V. Baer, Salisbury, qui ont décrit comme des organismes flagellés les cellules de la moule et même celles du nez humain (*Asthmatos ciliaris*).

F. D.

Dr C. Deichler. — **Nouvelle note sur les Protozoaires parasites dans les expectorations de la coqueluche** (*Zeitschr für Wissensch. Zoologie.* Bd XLVIII, 2 Heft, p. 303-310. Taf. XIX).

Ce travail est la suite des observations de l'auteur publiées sur le même sujet, observations qui ont donné lieu à des objections nombreuses. D'après Afanassiew, en effet, les organismes décrits par M. Deichler ne seraient que d'innocentes cellules lymphatiques déformées ; pour répondre à cette affirmation, l'auteur a publié le présent travail avec une planche où se trouvent représentés les phases de croissance, de vie libre et d'enkystement de son organisme parasite. Parmi ces figures, les unes, nous semble-t-il, peuvent être nettement rapportées à des cellules épithéliales en voie d'altération, les autres (kystes de l'auteur) sont des fragments de substances colloïdes de formes variées que l'on trouve fréquemment dans les préparations de mucus ou peut-être aussi de lambeaux d'épithélium pavimenteux ; mais il nous paraîtrait bien imprudent d'y voir un organisme unicellulaire.

F. D.

Podwyssozki. — **Sur l'importance des Coccidies dans la Pathologie du foie chez l'homme** *(Centralblatt für Bakt. und Parasitenk.*, VI Bd, N° 2, 8 Juli 1889, p. 41-44).

Jusqu'à présent les coccidies n'ont été que peu étudiées chez l'homme, et leur présence n'a été signalée dans ses organes que quand elles formaient des kystes facilement discernables. L'auteur pense que ces organismes se trouvent aussi à l'état de dissémination dans les cellules et passent alors complètement inaperçus. Il résume ainsi ses conclusions :

Dans tous les cas décrits jusqu'ici de la présence des coccidies dans le foie humain (Gubler, Dressler, Virchow), la grosseur de ces corps parasites a été représentée de façon différente.

En dehors de la présence des coccidies dans le foie de l'homme, sous forme de masses cystiformes, on en trouve aussi de répandues dans l'organe tout entier. Dans cet état, pourtant, elles passent tout à fait inaperçues à l'œil nu ou inexpérimenté, même armé d'un microscope, aussi bien qu'à l'œil qui n'y attache point une attention spéciale.

La présence des coccidies, à l'état de diffusion, dans le foie humain, est loin d'être rare, j'en ai trouvé 4 cas dans ma collection de foies pathologiques.

Les coccidies vivent habituellement en parasites dans les cellules du foie, mais plus souvent dans leurs noyaux. Les grosses présentent la forme de corps ovales avec une membrane épaisse et contiennent à leur intérieur une ou plusieurs spores. Elles donnent lieu à une forte hypertrophie des noyaux, à une déformation, et finalement à une destruction totale des éléments avec atrophie pigmentaire et destruction des cellules tout entières.

La destruction des cellules du foie et l'irritation produite par les coccidies dans le tissu inter et intra lobulaire peut donner lieu à une hypertrophie de ce tissu, à de la cirrhose du foie et à l'ictère.

J'ai trouvé et décrit sous le titre de *Karyophagus hominis,* dans les noyaux des cellules du foie, des coccidies analogues à celles décrites par Steinhaus et déterminées par lui *Karyophagus salamandræ* en attendant qu'elles prennent dans la classification zoologique une place basée sur l'histoire de leur développement.

Les premiers stades du développement des coccidies dans les noyaux apparaissant comme des vacuoles homogènes, sont analogues à la dégénérescence vacuolaire de la substance nucléaire, de telle sorte qu'il est souvent impossible de distinguer les parasites et

les simples vacuoles. A un stade plus avancé, leur membrane d'enveloppe à doubles contours et la présence de spores plus ou moins arrondies dans leur intérieur sont des signes distinctifs qui permettent de reconnaître les coccidies.

F. D.

STEFANO CAPRANICA. — **Sur quelques procédés de microphotographie** (*Zeitschr. für Wiss. Mikroskopie,* Bd. VI, Hef 1, 1889, p. 1-18.

L'auteur pense que si la microphotographie ne jouit pas de toute la faveur qu'elle mérite, c'est à cause de l'imperfection des épreuves obtenues jusqu'ici. Il s'est attaché à régler d'une manière plus précise l'éclairage des préparations et à obtenir des photographies instantanées. L'éclairage lui est fourni par la lumière solaire réfléchie par un héliostat et concentrée par une grande lentille condensatrice sur le miroir, puis de nouveau concentré sur la préparation au moyen de l'appareil d'Abbe. Cétte concentration exige naturellement l'emploi de cuves remplies de solution d'alun et destinées à arrêter les rayons calorifiques en ne laissant passer que les rayons lumineux. Ceux-ci, après avoir traversé l'objectif, sont conduits en partie à l'œil de l'observation, en partie sur une glace dépolie au moyen d'un binoculaire Zeiss. L'obturateur destiné à intercepter les rayons sur le trajet de l'objectif à la glace dépolie est placée soit au-dessous de la chambre, soit contre la glace elle-même.

L'auteur a divisé son travail en deux parties : l'une a trait à la microphotographie rapide, l'autre à la photographie des mouvements consécutifs des animaux microscopiques. Pour arriver à son but il a fait construire des appareils sur un plan absolument nouveau ; malheureusement, les descriptions qu'il en donne, n'étant accompagnées d'aucune figure, rendent la lecture de son mémoire très pénible. Il aurait été à souhaiter également que quelques-unes des photographies ainsi obtenues fussent jointes au travail, car le lecteur ne peut s'empêcher de regretter l'absence d'épreuves qui eussent, nous en sommes convaincus, fait beaucoup mieux ressortir toute la valeur des procédés de M. Capranica.

F. D.

E. ROUX ET A. YERSIN. — **Contribution à l'étude de la diphtérie,** (2e mémoire) (*Annales de l'Institut Pasteur,* t. III, 273).

Ces nouvelles recherches de MM. Roux et Yersin sont presque exclusivement consacrées à l'étude du poison soluble de la diphté-

rie, dont ils ont antérieurement établi l'existence (voir *Annales de micrographie*, page 242). Ils rappellent d'abord que les liquides des cultures acquièrent surtout une toxicité exagérée quand d'acides ils deviennent alcalins ; alors, c'est-à-dire après une attente de 30 à 40 jours à partir du moment de l'ensemencement, ils peuvent tuer en 24 heures à la dose de 4 ou 5 cmc des chiens d'un poids de 8 à 10 kilos ; à une dose plus faible (2 cmc) l'animal meurt moins soudainement, mais devient ictérique, maigrit beaucoup, vomit et expire après avoir langui pendant 4 ou 6 jours. Une dose inférieure à 1 cmc ne tue pas généralement les chiens d'un poids voisin de 10 kilos, cependant la quantité de poison injectée est suffisante pour les affaiblir considérablement, les rendre longtemps tristes et déterminer chez eux des paralysies, particulièrement celles des membres du train postérieur.

MM. Roux et Yersin insistent de nouveau sur leurs premières affirmations ; à savoir que le virus diphtéritique doit être considéré comme une diastase et non comme un poison chimique d'origine végétale ; ils démontrent, en effet, que sous l'influence croissante de la chaleur, ce poison perd beaucoup de son activité pathogène, et s'affaiblit de plus en plus. Soumis pendant 2 heures à 58°, il devient dix à douze fois moins virulent ; porté 20 minutes à 100°, et inoculé à haute dose (35 cmc), il peut tuer à la longue, mais sans produire de malaise immédiat. Le chauffage paraît donc détruire en grande partie l'activité de ce poison, mais le laisse cependant possesseur d'une action malfaisante comparable à celle des liquides sécrétés par les animaux atteints de diphtérie ; d'où la conclusion que les modifications que la température fait subir à cette toxine, peuvent être rapprochées des modifications que l'organisme vivant lui fait éprouver.

Conservées en vase clos, et à l'abri de l'air et de la lumière, les cultures filtrées du bacille de la diphtérie conservent longtemps leur activité. Au contact de l'air, leur virulence diminue, la lumière solaire agit très rapidement sur elles, surtout en présence de l'oxygène atmosphérique. Les milieux alcalins favorisent l'activité de ce poison, les milieux acides l'entravent. La substance toxique des cultures est précipitée par l'alcool, elle est aisément redissoluble dans l'eau ; elle est dialysable ; elle est facilement entraînée par les précipités ; à l'état sec, elle se conserve longtemps et peut être alors chauffée à 70° sans que sa puissance toxique soit sensiblement diminuée.

Comme on le voit, MM. Roux et Yersin s'attachent à démontrer que ce virus possède des propriétés générales des diastases. Nous ne pouvons que regretter que la nature ait doué les bacilles de la

diphtérie d'une puissance d'action si terrible ; déjà, par leur petitesse, ils ont longtemps échappés aux investigations des savants, et aujourd'hui on constate que ces êtres malfaisants, à dose impondérable, secrètent une substance capable d'agir en quantité infinitésimale sur les êtres vivants de forte taille. Souhaitons que MM. Roux et Yersin continuent encore, avec le talent dont ils ont donné de nombreuses preuves, ces études intéressantes sur l'une des maladies devant lesquelles le praticien, souvent impuissant, bat en retraite, découragé et vaincu.

D^r M.

T. Mitchell Prudden. — **Sur l'étiologie de la diphtérie** (*The american journal of the medica. sciences,* mai 1889).

Le Dr Prudden fort au courant des recherches qui ont été publiées sur la diphtérie par Klebs, Loeffler, Emmerich, Babès, Roux et Yersin, expose dans un mémoire récent le résultat de ses recherches sur cette même affection. Après une étude clinique et bactériologique de 24 cas de dipthérie observée chez des enfants âgés de 1 à 6 ans, M. Prudden est conduit à attribuer la cause de cette redoutable maladie à un streptococcus dont il donne la description suivante : Ce microorganisme, dont le diamètre des grains varie de 0,75 à 1,2 μ, se développe en longues chaînes dans les milieux nutritifs liquides et présente plus tard la tendance à se sectionner ou à se résoudre en diplocoques ; cette bactérie ne fluidifie pas la gélatine, elle croît très bien sur ce milieu de culture, sur l'agar, l'agar glycériné, le sérum de sang ; sur plaque de gélatine, elle fournit de petites colonies grisâtres qui augmentent graduellement de grosseur ; à 37°, ces colonies deviennent apparentes au bout de 24 heures sur les plaques d'agar. Dans le bouillon de bœuf à 37°, ce streptococcus croît modérément en formant au bout de 24 à 48 heures un nombre considérable de flocons blancs, légers, qui se déposent graduellement sur les parois du vase. Les expériences d'inoculation avec le *Streptococcus diphteriæ* ont porté sur 80 animaux (lapins, poules, pigeons); elles ont été pratiquées tantôt dans les veines, le tissu sous-cutané, intramusculaire, tantôt dans la chambre antérieure de l'œil et sur les membranes muqueuses ; bref, de toutes ces expériences, il résulte que le streptocoque considéré reproduit artificiellement une maladie analogue à la diphtérie.

M. Prudden croit devoir conclure de ses travaux : que le *Streptococcus diphteriæ* se trouve d'une façon constante dans les lésions, et les fausses membranes des malades atteints de diphtérie, tandis que le bacille de Loeffler peut faire défaut ; que ce microorganisme est probablement identique au streptococcus pyogène et de l'érysi-

pèle; enfin, que l'absence de cet organisme dans les viscères doit faire supposer qu'il agit sur l'économie générale en sécrétant un poison soluble que la circulation entraîne du point ou le streptococcus prolifère. C'est, il nous semble, un des grands mérites de MM. Roux et Yersin, d'avoir isolé la toxine du bacille de la diphtérie. Quant au nouvel organisme, ou plutôt à la nouvelle fonction que M. Prudden nous révèle chez le *Streptococcus pyogenes*, elle nous paraît bien en contradiction avec ce qui a été écrit jusqu'ici ; aussi, pensons-nous que les affirmations du savant expérimentateur américain ne seront admises, par la plupart des bactériologues, qu'après avoir été contrôlées par les auteurs compétents en la matière.

D^r M.

Dr L. Adametz. — **Recherches bactériologiques sur la maturation des fromages** (*Landwirthschaftliche Iahrbücher*, XVIII, 2 et 3, p. 228).

Depuis que M. Duclaux, dans ses recherches datant déjà de quelques années, a posé les bases de l'étude bactériologique de la maturation des fromages, la question semble n'avoir guère fait de progrès. M. Duclaux, qui s'était surtout occupé du fromage du Cantal, avait montré le rôle que les microbes jouent dans sa maturation. Les espèces principales, isolées par ce savant, étaient les suivantes : *Tyrothrix tenuis, filiformis, distortus, geniculatus, scaber, virgula, urocephalum, claviformis, catenula*. Les 7 premières sont aérobies, les 3 dernières anaérobies.

M. Adametz, dans le Mémoire que nous citons, expose le résultat des recherches qu'il a faites sur ce sujet dans l'école de laiterie de Sornthal, canton de St-Gall, en Suisse. Il s'est occupé exclusivement du fromage dit d'Emmenthal et d'un fromage mou, et est parvenu à en isoler 19 espèces microbiennes, savoir : 6 micrococcus, 5 sarcines et 8 bacilles. Il y a, en outre, trouvé 3 levûres. M. Adametz décrit minutieusement l'aspect microscopique de ces micro-organismes, ainsi que l'aspect macroscopique de leurs cultures sur la gélatine, la gélose et dans le lait. L'étude, surtout de leurs propriétés chimiques, n'en a toutefois pas été poussée assez loin pour qu'il soit possible de se rendre compte du rôle exact joué par ces différents microbes dans la maturation du fromage. Il est cependant à noter que M. Adametz a rencontré le plus souvent un bacille qui ne croit que très lentement dans la gélatine, à laquelle il communique une odeur de fromage.

Dans le fromage frais (Emmenthal), l'auteur a trouvé de 90,000-140,000 bactéries par gramme. Avec le temps, leur nombre aug-

mente pour arriver à 800,000 par gramme dans le fromage âgé de 71 jours. Le fromage mou est beaucoup plus riche en bactéries. Dans un fromage de 34 jours, celles-ci étaient au nombre de 1,200,000 par gramme dans les parties du milieu, et de 2,000,000 dans un fromage de 45 jours. Les bords en accusent un nombre encore plus considérable, de 3,600,000 à 5,600,000.

Le rôle des microbes, dans la maturation des fromages, est démontré par d'intéressantes expériences que l'auteur a faites avec des fromages stérilisés par différents antiseptiques (créoline, thymol, salol, acide salicylique, sulfure de carbone, vapeurs d'iode, etc.). Il en résulte que, quand la dose de l'antiseptique est assez forte pour arrêter tout développement microbien, la maturation ne se fait pas. Le fromage reste blanc, compacte, et il ne s'y forme pas de trous.

Des fromages auxquels on avait ajouté un grand nombre de moisissures ou un mélange de bactéries de la putréfaction, mûrirent de la même façon que les fromages fabriqués de la façon normale. Il eût toutefois été intéressant de répéter ces expériences avec les différents microbes isolés par M. Adametz ; peut-être en eût-on alors trouvé une espèce qui eût favorisé le processus de la maturation.

E. F.

MM. Galtier et Violet. — **Notes sur les maladies infectieuses du cheval, communément désignées sous le nom générique de fièvre typhoïde.** (*Journal de médecine vétérinaire et de zootechnie,* 3e série, XIV, p. 281).

Les auteurs ont étudié avec soin les affections typhoïdes du cheval. Dans le présent mémoire, ils arrivent aux conclusions suivantes :

1. Les affections dites typhoïdes du cheval sont multiples.
2. Parmi ces affections, deux que les auteurs ont étudiées se traduisent par des localisations plus ou moins prononcées sur l'ensemble des organes thoraciques et abdominaux, ainsi que sur les séreuses articulaires et tendineuses.
3. L'une de ces affections est due à un microbe qui affecte toujours la forme de streptocoque, l'autre est déterminée par une bactérie qui se présente surtout sous la forme arrondie, ou avec l'aspect d'un 8 de chiffre.
4. Ces deux maladies sont transmissibles par les lésions de l'intestin, ainsi que par les déjections.
5. Il y a lieu dans tous les cas d'isoler les malades et de désinfecter les locaux et les fumiers.

6. Enfin, les dénominations de pneumonie infectieuse, ou de pleuro-pneumonie infectieuse, par lesquels différents expérimentateurs ont essayé de séparer de la fièvre typhoïde proprement dite ces affections ou des affections analogues, ne sauraient pas mieux convenir à l'une qu'à l'autre de ces maladies, — lesquelles seraient plus rationnellement dénommées pneumo-entérite, en donnant à cette désignation l'acception large qui est généralement admise quand il s'agit de certaines maladies du porc.

E. F.

Dr George Cornet. — **De l'action des antiseptiques sur les bacilles de la tuberculose dans l'organisme animal** (*Zeitschrift für Hygiene*, V, 1, p. 99).

Dans ce travail, M. Cornet résume les nombreuses expériences qu'il a faites sur l'action que les antiseptiques, incorporés à l'organisme, peuvent exercer sur le développement des bacilles de la tuberculose qui ont été inoculés à ce dernier. Jusqu'ici on avait surtout étudié l'action directe des antiseptiques sur les cultures du bacille et sur les matières tuberculeuses, mais, comme l'a dit M. Volkman dans un congrès de chirurgie: « l'homme n'est pas un tube à essai, » et il est clair qu'en concluant de l'action d'un désinfectant mélangé à une culture, à son efficacité, quand on l'a introduit dans un organisme vivant qui lui fait peut-être subir une série de transformations que nous ignorons, on risque de se tromper souvent. Aussi, de telles expériences n'ont-elles de la valeur qu'à titre d'orientation. Elles ne deviendront réellement probantes et applicables à la thérapeutique que quand elles auront réussi à faire constater que l'incorporation de certains antiseptiques à l'organisme empêche, ou du moins entrave l'évolution des symptômes morbides chez l'animal auquel on a inoculé la tuberculose. Encore y aura-t-il lieu de ne pas appliquer trop hâtivement à l'organisme humain les résultats obtenus sur le corps de l'animal. Partant de ce point de vue, M. Cornet a essayé l'action d'un grand nombre de substances réputées antiseptiques ou ayant joui d'une certaine vogue dans le traitement de la phtisie : le tannin, l'acétate de plomb, l'ail, l'alantol et acide hélénique (ces substances entrent dans la composition d'un remède secret, vanté par M. Marpmann contre la tuberculose, le pinguin), l'hydrogène sulfureux, le menthol, le sublimé en solution acide (on sait d'après les expériences de M. Laplace que l'addition d'un acide, de l'acide muriatique en particulier, empêche la formation des précipités qui ne manquent pas de se produire quand le sublimé se trouve en contact avec des matières albuminoïdes, et qui paralysent ainsi l'action désinfectante de cet antiseptique),

la créoline et la créosote. Il commençait donc par inoculer la tuberculose à ses animaux — cobayes et lapins, — par des inhalations de cultures pulvérisées et par inoculations sous-cutanées, et les soumettait de suite après à l'action des désinfectants à étudier; ceux-ci leur étaient incorporés, suivant les cas, soit par des injections sous-cutanées, soit par la voie stomacale ou anale. Ici, toutefois, nous aurions à adresser une critique au procédé de M. Cornet. Selon lui, le problème consisterait à imprégner l'organisme tout entier de la substance antiseptique de telle sorte qu'il soit par cela stérilisé comme un bouillon de culture. C'est, nous semble-t-il, retomber dans l'erreur qui consiste à assimiler l'organisme à un tube à essai. L'organisme demande à être aidé seulement dans sa lutte contre l'invasion microbienne, et les antiseptiques jouent probablement dans cette lutte le rôle d'un appoint, grâce auquel l'organisme réussit à prendre le dessus; des doses trop massives, comme celles auxquelles a eu recours M. Cornet, et qui, très fréquemment dans le cours de ses expériences, amenèrent la mort des animaux par intoxication, doivent au contraire, en l'affaiblissant, le rendre moins apte à se défendre. Les lapins, par exemple, recevaient journellement un gramme de tannin, ce qui équivaudrait chez un homme de 60 kil. à une dose d'environ 85 grammes, ou bien 0,1 gr. d'acétate de plomb, et des cobayes 1.5^{cmc}—0,25^{cmc} d'une solution de sublimé au millième.

M. Cornet consacre un chapitre spécial à chacun des antiseptiques qu'il a employés, dans lesquels on trouvera consignés les résultats de chacune de ses nombreuses expériences portant sur 112 animaux, ainsi qu'une analyse des expériences analogues publiées précédemment par d'autres expérimentateurs. Nous pouvons nous borner ici à résumer les résultats qu'il a obtenus en deux mots, car le résultat a été malheureusement le même partout; dans aucun cas l'évolution de la maladie n'a pu être empêchée ni même retardée, même en saturant, dans la mesure du possible, l'organisme de l'animal avec les antiseptiques employés.

Dans une dernière expérience, M. Cornet a cherché à déterminer si l'évolution de la tuberculose chez un animal dans le corps duquel elle évolue d'habitude rapidement, comme chez le cobaye, pourrait être influencée par une différence d'altitude. Dans ce but, 6 cobayes furent inoculés par inhalation, et 6 autres par inoculation sous-cutanée, et 3 de chaque groupe expédiés à Davos, où M. le Dr Ten Kate Hoodemaker en fit plus tard l'autopsie, tandis que les autres restèrent à Berlin. Tous les animaux moururent tuberculeux, sans que l'on pût constater de différences entre ceux qui avaient été à Davos et ceux qui étaient restés à Berlin.

E. F.

Dr S. Kitasato. **Sur un microorganisme musqué.** (*Centralbl. für Bact. u. Parasit.* V. 11, p. 365).

Ayant rencontré dans le cours de ses expériences une infusion de foin altérée et dégageant une forte odeur de musc, l'auteur rechercha si cette dernière n'était pas peut-être le fait d'un microbe spécial. Il fit alors des cultures sur plaques et isola de ces infusions de nombreuses espèces de bactéries dont aucune cependant ne donna l'odeur du musc. M. Kitasato, abandonnant alors le classique procédé de M. Koch, eut recours à la méthode, en général si décriée par l'école allemande, des ensemencements fractionnés. Diluant la culture originale, de façon à ce que chaque goutte contînt environ un germe, il ensemença goutte par goutte une grande quantité de ballons de culture remplis d'une infusion de foin. Quelques ballons restèrent stériles, d'autres se peuplèrent de différentes bactéries, mais dans l'un il se développa une moisissure produisant l'odeur spéciale. Cultivée sur la gélatine qu'elle liquéfie, dans le bouillon, sur la gélose, le pain, les bouillies de riz et de pomme de terre, et dans des infusions de pois, de haricots, de seigle, de froment, d'avoine et même dans de l'eau stérilisée, elle communique aux cultures une odeur prononcée de musc, manifeste surtout dans le bouillon et les infusions de céréales. Sa croissance est particulièrement caractéristique sur les bouillies de pain, de riz et de pommes de terre, où elle forme un mycélium d'abord blanc, qui passe ensuite au rougeâtre et qui devient couleur de brique en 5-8 jours. Les cultures s'élèvent au-dessus du *substratum* et présentent alors l'apparence d'une crête de coq. Cet organisme forme des spores en forme de croissant, dont le développement est aisé à suivre au microscope, en chambre humide, dans une mince couche de gélatine. On voit alors sortir des filaments du mycélium des prolongements latéraux qui se transforment en croissant; souvent, le même pédoncule porte deux ou trois croissants et même plus. En outre, les filaments se résolvent, sur des *substrata* solides, en articles plus courts, qui donnent à leur tour naissance à de nouveaux filaments et fonctionnent donc comme de véritables arthrospores. Les corps en croissant supportent la dessication pendant 5 mois sans périr. Au-dessus de 30°, cet organisme ne croît pas. Il ne possède pas non plus de propriétés pathogènes. Il appartient au genre Fusisporium, et M. Kitasato propose, en conséquence, de l'appeler *Fusisporium moschatum*. La matière odorante peut être extraite par l'alcool, sans toutefois que l'auteur ait pu réussir à isoler un corps chimique spécial des solutions alcooliques.

E. F.

BIBLIOGRAPHIE

E. Bourquelot. — **Les Fermentations**, un volume in-8° de 178 p. avec 21 fig. dans le texte, 1889. H. Welter, éditeur, Paris.

On a rarement la bonne fortune de lire une thèse d'agrégation de la valeur de celle que M. Bourquelot a présenté à l'Ecole supérieure de pharmacie à Paris, ce qui ne saurait du reste surprendre beaucoup, étant donné le peu de temps dont les candidats disposent pour élaborer un travail qui exige le plus souvent des connaissances très étendues et acquises de longue date. Aussi la plupart de ces thèses peuvent-elles être rangées au nombre des compilations ennuyeuses à parcourir et d'un intérêt à peu près nul.

Le savant pharmacien en chef de l'hôpital Laennec nous a démontré qu'il pouvait en être autrement, et son essai sur les fermentations est un exposé des plus clairs et des plus précis de toute une classe de phénomènes vitaux, dont l'étude, si brillamment entreprise par M. Pasteur, demande des historiens d'une compétence rare, et telle qu'en ont montré MM. Schützenberger, Duclaux, Hansen et quelques autres savants. Nous doutons encore que M. Bourquelot eût pu mettre au jour dans un laps de temps si court, un travail aussi parfait, s'il n'avait été depuis longtemps préparé à ces questions difficiles par des recherches personnelles d'une haute valeur se rapportant presque toutes à la biologie cellulaire.

L'ouvrage de M. Bourquelot est divisé en deux parties bien distinctes : la première traite des ferments solubles, de leur préparation, de leur composition chimique, de leur action sur les substances qu'ils sont appelés à métamorphoser, et de l'influence qu'exercent sur eux les agents chimiques et physiques. La deuxième partie est consacrée aux ferments figurés, il est dit un mot de leurs caractères morphologiques, et longuement parlé des fermentations alcoolique lactique, butyrique, acétique, etc... Enfin, l'ouvrage se termine par un index bibliographique très complet sur la question.

Le livre que nous signalons, tiré à un très petit nombre d'exemplaires, se trouve donc pour ainsi dire comme jeter par hasard dans le commerce ; dans quelques jours il sera introuvable, que nos lecteurs en soient avertis!

Dr M.

Comptes-rendus et mémoires présentés au premier Congrès pour l'étude de la tuberculose chez l'homme et chez les animaux. — Deux fascicules formant ensemble un vol. de 760 p., avec fig., 1889. — Edit. G. Masson, Paris.

Le Congrès pour l'étude la tuberculose, qui a réuni en juillet 1888 un grand nombre de savants, sous la présidence de M. Chauveau, vient de faire paraître dans un beau volume in-8° ses comptes-rendus et mémoires, dont la publication a été confiée aux soins du Dr L. H. Petit, bibliothécaire-adjoint à la Faculté de médecine de Paris. Il serait téméraire de vouloir résumer en quelques lignes les questions si utiles et si profitables à l'hygiène qui ont été traitées dans cette réunion de savants; nous nous voyons contraint d'énumérer seulement les plus importantes.

Après les discours de MM. Chauveau et Verneuil, M. Nocard a abordé le premier la tribune, et a parlé avec la compétence qu'on lui reconnaît des dangers auxquels exposent l'usage de la viande et du lait des animaux tuberculeux. M. Arloing a traité ensuite des moyens qui peuvent s'opposer à la propagation de la tuberculose des animaux à l'homme et des réformes à introduire dans les lois et règlements pour atteindre ce but. M. Galtier signale également les dangers que fait courir à l'espèce humaine l'usage de la viande et du lait des animaux tuberculeux. M. Baillet traite de la saisie des viandes infestées par le bacille de Koch et MM. Veyssière (de Rouen), Rossignol (de Melun), Larmet (de Besançon), Thomassen (d'Utrech), Van Hertsen (de Bruxelles), Robinson (de Greenock, Ecosse), Cope (de Londres), prennent part à cette discussion.

Signalons encore sur le même sujet les communications intéressantes de MM. Moulé, Dionis des Carrières, Guinard, Hureau de Villeneuve, etc. Une échange de vue des plus instructives se produit dans le sein du Congrès sur le mode de contagion de la tuberculose. MM. Cartier, Chauveau, Verneuil, Degive (de Bruxelles) sont successivement entendus.

La deuxième question posée par les organisateurs du Congrès amène à la tribune le Dr Fr. Aguirre, de Santiago, qui donne des renseignements très complets sur la tuberculose au Chili. M. Robinson présente quelques observations sur la fréquence de cette

maladie en Asie Mineure ; M. H. de Brun complète cette communication relativement à la Syrie ; puis M. Landousy prononce un discours magistral sur la tuberculose de la première enfance; MM. Lannelongue, Hanot, entretiennent l'assemblée de la tuberculose du foie ; M. H. Leloir (de Lille), de la tuberculose tégumentaire ; MM. Hallopeau et Wickham, du lupus tuberculeux ; le professeur Jacobi (de New-York) de la tuberculose du thymus ; Kalindero (de Buckarest), de la méningite tuberculeuse ; enfin, MM. Chambrelent, Valude, Cornil, Debroklonsky, Torkomian (de Scutari), etc., parlent des tuberculoses localisées. MM. Legroux, Trasbot, Straus et Wurtz, Cadeac et Malet reviennent encore sur les divers modes de transmission de la tuberculose par les ingesta ; M. Petresco, par les crachats. Notons aussi les discours de MM. Nocard, Jeannel, Cagny, Arloing, Verneuil, Harteinstein, Girard, etc. sur le diagnostic de cette affection. Ces communications du plus haut intérêt sont suivis de nombreux discours sur la thérapeutique médicale et chirurgicale de la tuberculose. MM. Martinez Vargas, Luton, Chauvin, Jorissenne, Valenzuela, Schoull, Brémond, Chassinat, etc., se succèdent à la tribune en préconisant les remèdes qui parraissent avoir donné les meilleurs effets curatifs de cette affection.

La lecture des comptes-rendus des séances de ce premier Congrès sur la tuberculose s'impose donc à tous ceux qui peuvent être appelés à diagnostiquer et à traiter les formes si diverses que revêt cette redoutable maladie.

D[r] M.

A. Charrin. — **La Maladie pyocyanique**, un vol. de 122 p. avec 2 pl., Paris, 1889. Steinheil, éditeur.

Le D[r] Charrin, dont on connaît déjà les belles et patientes recherches sur le bacille du pus bleu, a eu l'heureuse idée de réunir en un volume l'ensemble de ses travaux sur ce microbe. Ce bacille capable, suivant l'expression de M. Bouchard, de créer une *maladie d'étude*, a été envisagé par M. Charrin sous toutes ses faces ; aussi son livre est-il une monographie complète et intéressante, telle qu'on voudrait en posséder pour les organismes microscopiques dont les fonctions sont utiles à connaître.

Tout d'abord, le D[r] Charrin étudie la morphologie du bacille pyocyanique, ses variations pléomorphiques, puis il consacre de longs chapitres aux effets que ce microbe peut produire sur l'organisme animal, à l'anatomie pathologique de la maladie pyocyanique, au mécanisme de cette maladie, etc., etc. Les derniers

chapitres du livre que nous analysons renferment en outre des considérations très intéressantes sur l'immunité, la nature des matières morbifiques et vaccinantes, et sur les infections mixtes. Cette étude, dont la lecture est pleine d'attraits, nous paraît un modèle digne d'être remarqué parmi les travaux de ce genre ; en conséquence, nous ne saurions trop recommander aux bactériologues de la parcourir avec toute l'attention qu'elle mérite.

Dr M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

PROTOPHYTES ET PROTOZOAIRES

F. Castracane. — Reproduction and multiplication of diatoms (*Journal of the Royal microscopical Society*, Fév. 1889, page 22).

A. Pilliet. — Sporozoaires parasites de l'homme (*Tribune médicale*, du 11 avril 1889).

Professeur Angelo Celli. — Dei protisti citofagi o parasiti endocellulari. Sunto di lezioni (Sur les protistes cytophages ou parasites endocellulaires. Recueil de leçons) (*Riforma medica*, mai 1889).

BACTÉRIOLOGIE

A. Reuleaux. — De l'Etiologie du tétanos, un cas de tétanos d'origine équine (*Gazette médicale de Liège*, 13 juin).

Netter. — Recherches sur les meningites suppurées (communication à la Société clinique de Paris).

Charrin. — Des infections secondaires (*Journal de Pharmacie et de Chimie*, 15 avril 1889).

LUCET. — Sur la nature infectieuse des mammites chez la vache (*Recueil de Médecine-Vétérinaire*).

METCHNIKOFF. — Etude sur l'immunité (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 289).

WINOGRADSKY. — Sur le pléomorphisme des bactéries (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 249).

LAURENCE FLICK. — Auto-inoculation in tuberculosis (*Times and Register*, 21 mai 1889).

LUMIÈRE. — Pathogénie de la suppuration (*Journal du Service médical de Lille*, 26 avril, 3 et 7 mai 1889).

RODAIT. — Les microbes des écoulements de l'urèthre (*Union médicale*, 2 mai 1889).

NETTER. — Sur les microbes pathogènes contenus dans la bouche des sujets sains et les maladies qu'ils provoquent, indications pour l'hygiéniste et le médecin (*Revue d'Hygiène et de Police sanitaire*, t. XI, page 501).

CH. G. CURRIER. — The efficacy of filters and other means employed to purify drinking-water. *A bacteriological study* (De l'efficacité des filtres et autres moyens employés pour purifier les eaux potables) (*The Medical news*, 20 et 27 avril 1889).

KURLOFF. — Ueber eine im Laboratorium acquirirte Milzbrand infection, nebst Bemerkungen über die Therapie des Milzbrandes (Sur une affection charbonneuse acquise dans le laboratoire et observations sur la thérapeutique du charbon) (*Deutsches Archiv für klin Medicin*, XLIV, 1889, 2 et 3).

A. TOMASCHEK. — Ueber *Bacillus muralis* u. Zopf's Kokken-u. Stäebchenzoogloea der Alge *Glaucothrix gracillima* (Sur le bac. muralis et les zooglées de coccus et bacilles de l'algue *Glaucothrix gracillima*) (*Botan. Centralblatt*, XXXVI, p. 189).

ANTON HANSGIRG. — Noch einmal über *Bacillus muralis* Tomaschek (Encore une fois à propos du *Bac. muralis* Tom. (*Botan. centralbl.*, XXXVII, p. 33).

BILLINGS, FRANK, S. — The southern cattle plague (texas fever) of the united States, wirth especial relation to its ressemblance to the yellow fever. *An etiological study* (La maladie du bétail dans le Sud (fièvre du Texas) des Etats-Unis, étudiée spécialement au point de vue de sa ressemblance avec la fièvre jaune. Etude étiologique) (*Lincoln Neb.*, 1888).

Dr S. BELFANTI et Dr B. PESCAROLO. — Neuer Beitrag zum bacteriol. Studium des Tetanus (Nouvelle contribution à l'étude

bactériol. du tétanos (*Centralblatt für Bacteriol. u. Parasitk.*, V, p. 680 et 710).

Dr Th. Janowski.— Zur diagnostischen Verwerthung der Untersuchung des Blutes bezügl. des Vorkommens von Typhusbacillen (De la recherche des bacilles du typhus dans le sang comme moyen de diagnostic) (*Centralbl. für Bacteriol.*, V, p. 657).

Dr med. A. Stschastny. — Ueber Beziehungen der Tuberkelbacillen zu den Zellen (Sur les relations entre les bacilles de la tuberculose et les cellules) (*Virchow's Archiv,* 115, 1889, p. 108).

James Kunz. — Bacteriologisch-chemische Untersuchungen einiger Spaltpilzarten. Aus dem med. chem. Laboratorium des Prof. Nencki in Bern. (Recherches bactériol-chimiques sur quelques espèces de schizomycètes. Travail fait au laboratoire médico-chimique du prof. Nencki, à Berne) (*Sitzungsberichte d. Kais. Akademie d. Wissenschaften in Wien, Mathem. naturw. Classe, Bd.* XCVII, 2, avril 1888).

Dr V. Bovet. — Ueber die chemische Zusamensetzung der Bacillen des *Erythema nodosum* (Sur la composition chimique des bacilles de l'*Erythema nodosum* (Laboratoire du prof. Nencki, à Berne). (*Sitzungsberichte der Kais. Akademie d. Wissenschaften in Wien, mathem. naturw. Classe, Bd.* XCVII, 2, décembre 1888).

TECHNIQUE MICROSCOPIQUE

L. Ranvier. — Traite technique d'histologie, 2e édit., un vol. gr. in-8o de 870 pages et 444 fig., 1889. Savy, éditeur, Paris.

Beauregard et Galippe. — Guide pratique pour les travaux de micrographie, 2e édition, un vol. in-12 de 900 pages, 1888. G. Masson, éditeur, Paris.

Ch. Remy. — Manuel des travaux pratique d'histologie des éléments des tissus, des systèmes des organes, un vol. petit in-8o de 399 pages. Lecrosnier et Babé, éditeurs, Paris.

L'Éditeur-Gérant :

Georges CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT

ANNALES

DE MICROGRAPHIE

NOTES TECHNIQUES SUR L'ÉTUDE DES PROTOZOAIRES

PAR

FABRE-DOMERGUE

Lors qu'après s'être rompu aux travaux de technique micrographique courante, tels que l'exigent l'histologie, l'embryologie ou l'anatomie microscopique, on veut aborder l'étude des protozoaires; certaines difficultés surviennent, qui résultent surtout de la différence des méthodes exigées par ces êtres.

Dans la plupart des sciences qui s'appuient sur l'examen au microscope, l'étude du vivant, en effet, bien que désirable et utile pour contrôler l'action des réactifs, ne montre qu'une minime partie des détails révélés par ceux-ci, tandis que pour les protozoaires c'est le contraire qui a lieu. L'observateur ne se sert des réactifs fixateurs et colorants qu'en dernier ressort, après avoir épuisé tous les moyens d'observation sur les organismes vivant normalement dans le milieu qui leur convient. De plus, presque tous les êtres de cette classe nagent librement dans les liquides qui les contiennent ; ils sont parfois épars, peu nombreux, difficiles à réunir et à fixer en préparations durables.

Toutes ces raisons sont un peu cause de la rareté des

travaux sur ce sujet et cela est si vrai que la plupart des observations, faites en passant sur les protozoaires par les savants distingués dans d'autres branches de la micrographie, présentent à chaque pas des erreurs dues à leur inexpérience dans cette partie de la technique. Nous ne voulons point dire par là que l'étude des protozoaires soit plus difficile que toute autre, mais seulement qu'elle présente ses difficultés propres et qu'elle exige surtout une patience dont a rarement besoin celui qui travaille sur les préparations fixées et immobiles.

Cet article a pour but de présenter l'ensemble des procédés usités pour l'étude des protozoaires libres ou parasites, bien que chaque observateur préconise un fixateur ou un colorant différents qu'il emploie à l'exclusion des autres ; le principe reste le même et l'on peut décomposer en trois parties distinctes la technique spéciale dont nous nous occupons : 1° étude sur le vivant ; 2° fixation ; 3° coloration et conservation.

Etude sur le vivant. — Ce n'est point ici le lieu de traiter de la récolte des protozoaires ; leur habitat est extrêmement varié, et il est peu de liquides naturels qui n'en recèlent quelques formes. Qu'ils vivent dans les eaux douces ou salées parmi les algues, qu'ils se nourrissent aux dépens d'un animal, soit dans l'intestin, soit dans le sang, la manière de les étudier est exactement la même. On les recueille et on les isole facilement au moyen de fines pipettes dont l'ouverture ne doit point avoir plus de $0^{mm},1$ à 1^{mm} de diamètre. La lame de verre portant les organismes que l'on veut étudier est placée sous un objectif faible à long foyer, et la main portant la pipette s'appuie sur la platine du microscope. On amène la pointe de l'instrument au point voulu tout en tenant l'œil sur l'organisme que l'on désire isoler, et, lâchant un peu le caoutchouc on l'aspire brusquement. Cette opération, qui devient très simple avec un peu d'habitude n'est pas toujours nécessaire et l'on peut souvent s'en dispenser si les organismes sont favorablement placés.

La goutte de liquide déposée sur la lame peut être immédiatement recouverte d'une lamelle ; mais, quand on a

affaire à des organismes de taille assez grande pour être visibles à l'œil nu, il vaut mieux les étudier d'abord sans les couvrir. En diminuant peu à peu le liquide qui les baigne on arrive à les immobiliser sans les comprimer, et l'examen peut être ainsi continué très longtemps si l'on a soin de prévenir la dessication complète de la préparation. Un fin pinceau de martre, ou l'extrémité d'une plume dont on n'a réservé que les dernières barbules permettent d'enlever ou d'ajouter aussi peu d'eau qu'il est nécessaire selon que l'instrument est plus ou moins imbibé de liquide.

Cet examen à nu, sans lamelle, peut se faire avec des objectifs à sec très puissants ; la face supérieure du liquide étant très plane joue à peu près le rôle de lamelle.

Si, au contraire, on couvre la préparation, la compression s'obtient en aspirant le liquide contre les bords du couvre-objet, mais alors elle doit être extrêmement graduelle et ménagée si l'on veut éviter de voir éclater et diffluer les organismes. Quand ceux-ci sont de grande taille, quelques fragments de papier d'épaisseur appropriée préviennent leur déformation.

Certains infusoires sont extrêmement agiles et peuvent difficilement s'étudier sans compression, mais comme celle-ci, pour si légère qu'elle soit, altère un peu leurs contours, il vaut mieux abandonner pendant quelques heures sous la chambre humide les préparations qui les contiennent. Ils se fixent bientôt à un point ou à un autre, presque toujours à une petite distance des bords de la goutte liquide, ou de la lamelle, et n'opèrent plus que de rares mouvements, tandis qu'auparavant on avait peine à les suivre même avec un objectif faible.

Enfin, l'on peut très heureusement, dans quelques cas, se servir des réactifs colorants de la matière vivante préconisés par Bradt, Henneguy, Certes, et dont les meilleurs sont le brun Bismark et le violet d'aniline. Ces substances, dissoutes en solution concentrée dans un peu du liquide où vivent les organismes, ou dans du sérum artificiel de Kronecker sont ajoutées par gouttelettes aux préparations que l'on veut soumettre à leur action. Les solutions doivent être parfaitement neutres, ce qu'on obtient parfaitement en les gardant sur de la craie pulvérisée. Le brun

Bismark colore les organismes sans les altérer, quand il est bien neutre ; le violet d'aniline, au contraire, les colore en les tuant lentement et les immobilisant, ce qui facilite beaucoup l'étude. D'autres substances telles que le bleu de diphénylamine, au contraire, préconisé par M. Certes, ne colorent pas les organismes qui y vivent fort à l'aise, même dans la solution concentrée. Cette circonstance facilite l'observation, car on les voit alors se détacher en clair sur un fond bleu intense. Les bols alimentaires seuls, s'il en existe dans le protoplasma, sont colorés en bleu. Ces expériences sont aussi élégantes qu'instructives.

Pendant toute la durée des observations sur le vivant, il est indispensable de prendre un grand nombre de notes et de croquis aussi exacts que possible. La forme générale, l'habitus de chaque espèce, ne peuvent être fidèlement représentés que par ce moyen, et si l'on comptait sur les préparations ultérieures, fixées pour dessiner ces détails, on s'exposerait à de graves mécomptes.

Fixation. — Parmi les protozoaires, les rhizopodes, les sporozoaires, les radiolaires, se fixent assez bien dans leurs formes ; les infusoires, au contraire, diffluent très souvent en totalité ou en partie, ou bien encore se contractent au point de devenir méconnaissables. Un bon fixateur doit présenter deux qualités : il doit conserver la forme de l'organisme, et il doit aussi mettre en relief les détails intimes de son organisation. L'on a préconisé dans ce but le liquide de Kleinenberg, l'alcool, le chlorure d'or, le sublimé, la solution iodée iodurée, l'acide osmique, l'acide acétique, etc. Tous ces liquides sont bons pour la plupart des protozoaires, et on peut les employer indifféremment pour les formes peu contractiles ; mais, pour la fixation de ces dernières, rien ne vaut l'acide osmique ou un mélange à parties égales d'acide osmique à 1 p. °/₀ et d'acide acétique à 20 p. °/₀.

La fixation peut être faite soit en masse en jetant quelques gouttes de réactif dans un verre de montre contenant les organismes. Mais ce procédé est défectueux et ne présente aucun avantage pour l'étude d'une forme determinée. Il vaut beaucoup mieux isoler sur une lame un ou plu-

sieurs des individus que l'on veut étudier et les soumettre, *sous l'objectif même*, à l'action du réactif; certains détails, en effet, n'apparaissent qu'un instant au moment où le réactif commence à agir et ne se conservent pas. Pour faire agir le réactif on couvre le liquide d'une lamelle et l'on comprime doucement, en observant toujours au microscope, soit pas aspiration avec le pinceau, soit avec un bout de papier buvard. Au moment précis où l'organisme est assez comprimé pour pouvoir être immobilisé sans déformation on pose deux points de paraffine fondue sur les bords de la préparation. Ces points de paraffine empêchent la lamelle de bouger et rendent plus facile l'opération de la fixation. Pour effectuer celle-ci, il suffit de poser une goutte du réactif choisi sur le bord de la lamelle et d'aspirer de l'autre bord avec du papier buvard. On observe pendant ce temps les modifications qui surviennent par suite de l'action du fixateur.

La fixation peut se combiner avec la coloration si l'on emploie le vert de méthyle acétique mélangé avec la solution d'acide osmique à 1 p. °/₀. Dans ce cas, les noyaux se colorent presqu'instantanément après la mort et l'étude de l'organisme peut se faire sur le champ. Malheureusement, on n'est pas toujours maître de l'action de cet excellent réactif. Très souvent, les noyaux ne se colorent que peu ou pas, ou bien le protoplasma tout entier prend une teinte bleue qui masque la coloration nucléaire. On obvie à ce dernier inconvénient en laissant la préparation sous une chambre humide, après avoir placé, sur un des bords de la lamelle, une goutte de glycérine faiblement teintée de vert de méthyle.

Les préparations fixées doivent être toujours, avant la coloration, soigneusement lavées par un courant d'eau distillée déterminé par un petit morceau de buvard et continué pendant un quart d'heure. Font exception, cependant, les préparations fixées par le mélange d'acide osmique et de vert de méthyle qui se décoloreraient rapidement par le lavage et doivent être conservées telles qu'elles.

Coloration et conservation. — Le picro-carmin, le carmin de Beale, le carmin aluné, le vert de méthyle convien-

nent fort bien pour mettre en évidence les détails d'organisation des organismes unicellulaires. La coloration s'effectue en faisant passer un courant de réactif sous la lamelle après le lavage à l'eau distillée et abandonnant la préparation dans la chambre humide pendant le temps voulu pour que son action soit complète.

Si l'on a coloré au vert de méthyle on peut conserver, en plaçant contre la lamelle, une goutte de liquide conservateur de Brun (1) ou de glycérine diluée faiblement teintée par le vert de méthyle. L'excès de matière colorante se porte vers les bords de la préparation et peut être aspiré le lendemain après concentration du liquide conservateur.

Après l'action du picro-carmin ou du carmin aluné on lave à l'eau distillée, ou à l'acide acétique (Maupas) et l'on met une goutte de liquide conservateur.

Enfin, la meilleure manière de se servir du carmin de Beale est de le diluer dans le liquide conservateur, de façon à obtenir une teinte rosée très faible et faire agir en même temps le colorant et le liquide conservateur.

Quelques observateurs préfèrent monter leurs préparations dans le baume au lieu de les mettre dans la glycérine. Ces préparations sont beaucoup plus difficiles à bien réussir; mais, quand on parvient à les réaliser on obtient ainsi de magnifiques résultats.

Pour monter dans le baume on effectue la fixation et la coloration comme nous l'avons indiqué, mais après le lavage destiné à enlever l'excès de matière colorante, on fait passer des courants d'alcool à 50°, 70°, 90° et 100°, puis de la créosote, et enfin un courant de baume du Canada, dissous en solution très diluée dans le xylol. Ce n'est qu'alors que l'on peut terminer la préparation en y introduisant la solution plus épaisse de baume destiné à se solidifier peu à peu par évaporation lente. Le point essentiel, le plus difficile à obtenir est la déshydratation, et il faut laver aux

---

(1) Le liquide de Brun, dont nous nous servons depuis de longues années en guise de glycérine, est un mélange d'eau 100, glycérine 10, glucose 40, alcool camphré 10. Il présente l'avantage d'avoir un indice de défraction plus élevé que la glycérine seule; de plus, son maniement est plus commode et la surcoloration des préparations moins à craindre par son emploi.

alcools avant de faire passer la créosote qui formerait sans cette précaution une émulsion impossible à enlever. Cet inconvénient est plus difficile à éviter avec le xylol ou l'essence de girofles.

Si l'on dispose d'un certain nombre d'individus, et que l'on veuille surtout en conserver la forme on peut faire les opérations de fixation de coloration et de lavage dans un verre de montre, et ne les transporter sur la lame qu'après les avoir mis dans la créosote.

Les préparations conservées dans les milieux liquides, ou dans les milieux résineux, se gardent comme les autres préparations microscopiques et se ferment de la même façon.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE

ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE *(Suite)*

PAR

Le Dr P. MIQUEL

§ III. — Description des espèces.

Urobacillus Pasteurii *sive* Bacillus ureæ β.

Habitat. — J'ai pour la première fois entrevu ce ferment dans les eaux d'égout, en 1886, mais il n'a été définitivement isolé et cultivé à l'état de pureté qu'une année plus tard, vers le mois de novembre de l'année 1887. Depuis, j'ai constaté la présence de ce microbe dans les eaux de vidanges, de rivières, de sources, et de quelques puits parisiens. Même quand on prend la précaution de chauffer pendant quelques heures ces diverses eaux à une température supérieure à 60°, il est rare que les colonies fournies par cet organisme sur les plaques de gélatine soient dans un parfait état de pureté ; la plupart du temps, elles sont contaminées par d'autres bacilles qu'on parvient aisément à éliminer au moyen de nouvelles cultures sur plaques fabriquées avec des semences provenant d'une fermentation achevée.

L'*Urobacillus Pasteurii* s'observe rarement au sein des poussières atmosphériques; cependant on le découvre facilement dans le sol, dans la vase des ruisseaux, mais son habitat de prédilection est la boue fortement ammoniacale qui se forme sur la pierre des cabinets d'aisance mal entretenus et qui exhale une odeur d'alcali volatil très vive pouvant aller jusqu'à provoquer le larmoiement. Sans doute le *Micrococcus ureœ* de MM. Pasteur et Van Tieghem

se rencontre aussi dans ces mêmes milieux, mais il est très rare que le bacille qui nous occupe et plusieurs autres ferments en bâtonnets y fassent défaut.

L'*Urobacillus Pasteurii* apparaît sous la forme d'un bacille mobile, d'une longueur très variable et d'une largeur voisine, mais généralement supérieure à 1 μ; j'étudierai ses divers aspects dans la partie de son histoire réservée à sa morphologie.

Caractères physiologiques. — Quand on prend une goutte d'urine normale ou artificielle fermentée sous l'action de l'*Urobacillus Pasteurii*, et qu'on la porte dans un vase d'urine normale stérilisée par la chaleur qu'on expose ensuite à 30°, on constate après une attente de 24 heures que l'urée tenue en dissolution dans ce liquide animal est totalement transformée en carbonate d'ammoniaque.

Urine normale stérilisée à 110°

Essais	Temps	Urée disparue par litre	Essais	Temps	Urée disparue par litre
1	24 heures	18gr 9	11	24 heures	10gr 8
2	»	19 5	12	»	10 0
3	»	21 3	13	»	10 2
4	»	18 4	14	»	1 7
5	»	1 3	15	»	20 1
6	»	17 8	16	»	18 7
7	»	19 3	17	»	21 2
8	»	22 6	18	»	20 5
9	»	19 4	19	»	21 3
10	»	20 2	20	»	18 6

Dans les essais 5 et 14, la fermentation ne s'est pas établie par suite du défaut de rajeunissement de l'espèce; dans l'essai 14, la fermentation était complète au bout de 48 heures; dans l'essai 5, l'urine est restée indéfiniment inaltérée. Ces insuccès de culture se rencontrent fréquemment avec l'urine normale, surtout si on tente les ensemencements avec des ferments vieux de quelques jours; il arrive souvent que c'est au bout de 3, 4 et même 8 jours que débute la fermentation; mais une fois commencée, elle se poursuit rapidement et s'achève en moins de

24 heures. Quant aux essais, 11, 12 et 13, qui accusent seulement une disparition de 10 grammes d'urée, ils témoignent d'une erreur de laboratoire; à l'urine normale habituelle on avait substitué par mégarde trois flacons d'urine étendue au demi, réservée pour la recherche des ferments trop sensibles au carbonate d'ammoniaque; quoiqu'il en ait été, toute l'urée des liquides des essais 11, 12 et 13 était complètement hydratée.

Des expériences beaucoup plus nombreuses ont été effectuées avec de l'urine artificielle (bouillon peptonisé à 2 p. 100 et chargé de 20 grammes d'urée par litre). Les résultats obtenus ne présentent plus d'écarts aussi grands que ceux qui se lisent dans le tableau précédent, ce qui tient au poids presque invariable d'urée tenue en dissolution dans les urines artificielles. Dans ce cas, la fermentation s'effectue à coup sûr, et 24 heures après l'ensemencement, l'urée que renferme le bouillon a complètement disparu, c'est du moins ce que j'ai observé dans 500 ou 600 fermentations de ce genre. Je me garderai de reproduire ici ces chiffres par trop monotones; cependant, je dois en publier quelques-uns pour montrer la constance et la rapidité d'action du bacille qui nous occupe.

Urine artificielle chargée de 20 gr. d'urée par litre

Essais	Temps	Urée disparue par litre	Essais	Temps	Urée disparue par litre
1	24 heures	19gr 8	19	24 heures	19gr 7
2	»	19 5	20	»	19 5
3	»	19 5	21	»	19 6
4	»	19 7	22	»	19 4
5	»	19 8	23	»	19 4
6	»	19 4	24	»	19 4
7	»	19 4	25	»	19 5
8	»	19 5	26	»	19 4
9	»	19 4	27	»	19 7
10	»	19 3	28	»	19 6
11	»	20 0	29	»	19 8
12	»	19 5	30	»	19 6
13	»	19 6	31	»	19 4
14	»	19 6	32	»	19 9
15	»	19 4	33	»	19 5
16	»	19 5	34	»	19 7
17	»	19 7	35	»	19 5
18	»	19 6	36	»	19 5

Les essais 20, 21, etc., et jusqu'à l'essai 36 inclusivement, constituent une série d'expériences journalières ininterrompues effectuées avec quelques gouttes du liquide mis à fermenter la veille. L'essai 36 représente donc une fermentation de 17e génération, et je me hâte d'ajouter que rien de particulier n'a été remarqué dans le bacille de ce 17e passage qui put faire soupçonner une atténuation ou une exaltation quelconque dans ses facultés physiologiques, tout au plus j'ai cru m'apercevoir que l'organisme ainsi cultivé se rajeunissait plus difficilement dans l'urine normale.

Quand on augmente la quantité d'urée dissoute dans le bouillon peptonisé mis à fermenter, on constate que l'hydratation de 20 grammes d'urée en 24 heures est un travail bien inférieur à celui que peut fournir l'*Urobacillus Pasteurii*, ainsi qu'en font foi les résultats suivants :

Urine artificielle chargée de 25 gr. d'urée par litre

Essais	Temps	Urée disparue par litre	Essais	Temps	Urée disparu par litre
1	24 heures	24gr 6	5	24 heures	24gr 6
2	»	24 7	6	»	24 7
3	»	24 8	7	»	24 5
4	»	24 8	8	»	24 6

La dose d'urée peut être portée à 30 grammes pour 1000 cmc de bouillon sans pour cela que la fermentation cesse de s'achever en 24 heures ; cependant, le rajeunissement de l'espèce devient moins certain, et le retard que l'on constate dans le début de la fermentation rend plus étroite la limite de temps de 24 heures qu'on vient de voir suffire amplement à l'acte physiologique de l'hydratation totale de l'urée dissoute dans le bouillon.

Urine artificielle chargée de 30 gr. d'urée par litre

Essais	Temps	Urée disparue par litre	Essais	Temps	Urée disparue par litre
1	24 heures	29gr 7	6	24 heures	29gr 8
2	»	29 9	7	»	3 9
3	»	26 6	8	»	29 6
4	»	30 0	9	»	29 7
5	»	1 6	10	»	24 2

En laissant de côté l'essai 5 dans lequel l'ensemencement s'est montré infécond, et l'essai 7 où la fermentation est à peine à son début, on observe que dans les autres cas, sauf dans les essais 3 et 10, le phénomène biologique s'est déroulé dans l'espace d'un jour ; après deux heures d'attente, c'est-à-dire au bout de 26 heures, l'urée des vases 3 et 10 était entièrement hydratée ; ce qui montre bien qu'il faut, dans la plupart des cas, attribuer à un retard dans la révivification de l'espèce, et non à la paresse du ferment, les chiffres trop faibles que présentent les essais 3 et 10.

Forçons encore la dose de l'urée dissoute dans le bouillon, portons-la à 40 grammes par litre, on constate alors manifestement que cette dose de carbamide gêne le premier développement du microbe et exerce une action néfaste sur le bacille naissant ; une fois l'organisme solidement établi, la fermentation prend une allure rapide et se termine habituellement bien avant la fin du second jour.

Voici quelques exemples de ces fermentations :

Urine artificielle chargée de 40 gr. d'urée par litre

Essais	Urée disparue par litre après	
	24 heures	48 heures
1	14gr 3	39gr 8
2	17 8	39 9
3	1 6	27 4
4	22 3	40 0
5	24 5	39 8
6	15 4	39 9

Au bout de 24 heures le matras n° 3 était parfaitement limpide, 24 heures plus tard les trois quarts de son urée étaient transformés en carbonate d'ammonium ; quant aux autres essais, la fermentation, bien qu'anormalement pénible durant les premières 24 heures, était terminée à la fin du second jour.

Les résultats de ces diverses expériences sont assurément instructifs, ils démontrent que l'*Urobacillus Pasteurii* est un agent très actif de la biogénèse de l'ammoniaque, mais ils ne peuvent nous éclairer suffisamment sur la

marche progressive du phénomène de la fermentation dont ils indiquent simplement la limite finale.

Ces indications, qu'on peut qualifier de relatives, ne sauraient satisfaire l'expérimentateur ; il nous importe de suivre le phénomène de la transformation de l'urée d'heure en heure, de fixer exactement le moment où il commence et l'instant où il se termine ; c'est ce que nous allons faire maintenant en calculant le temps indispensable à l'incubation du microbe et l'heure exacte où les dernières traces d'urée disparaissent dans le bouillon.

En multipliant, à partir de l'ensemencement, les dosages du liquide soumis à la fermentation on note que, durant les premières heures d'un essai identique à ceux qui viennent d'être rapportés, la quantité d'urée dissoute dans le bouillon reste intacte ; dans les conditions où je me suis placé, c'est environ vers la 9e heure que débute l'hydratation ; d'abord lente, elle ne tarde pas à s'accélérer, puis à marcher uniformément jusqu'à la disparition totale de la carbamide.

Les quatre expériences ci-après indiquées, et les dosages effectués toutes les 120 minutes qui s'y rapportent, ne peuvent laisser de doute à cet égard :

Urine artificielle chargée de 20 gr. d'urée par litre

Heures des dosages	Urine disparue par litre				
	I	II	III	IV	Moyennes
Début	1gr 5	1gr 5	1gr 5	1gr 5	1gr 5
6 h. après	1 5	1 5	1 5	1 5	1 5
8 »	1 5	1 8	1 5	1 5	1 6
10 »	2 8	2 0	3 1	2 3	2 5
12 »	5 9	7 3	8 2	5 2	6 5
14 »	11 3	12 8	13 7	10 9	12 2
16 »	16 2	17 2	18 4	17 3	17 3
18 »	19 8	19 9	19 8	19 7	19 8

Abstraction faite de la durée d'incubation de l'urobacille, c'est donc environ de 8 à 9 heures que dure le phénomène de l'hydratation dans le bouillon peptonisé contenant

20 grammes d'urée par litre. Cette durée de temps, remarquablement courte, range l'*Urobacillus Pasteurii* au nombre des ferments de la carbamide les plus actifs. J'ai également suivi la marche de cette fermentation au moyen de dosages horaires que je juge instructif de rapporter.

Trois vases de bouillon peptonisé à 20 gr. d'urée par litre, A, B, C, sont ensemencés à 10 h. du soir avec une culture d'urobacille vieille de trois jours; le lendemain matin, on procède aux trois séries d'analyses suivantes:

Urine artificielle chargée de 20 gr. d'urée par litre

Heure des dosages	Urée disparue par litre				
	A	B	C	Moyennes	Différences
8 h. du matin	1gr 6	1gr 6	1gr 6	1gr 6	»
10 »	2 6	2 8	2 5	2 6	»
11 »	5 3	5 8	5 5	5 5	2gr 9
midi	8 6	8 3	8 7	8 5	3 0
1 h. du soir	11 1	11 7	12 1	11 6	3 1
2 »	14 3	14 4	15 0	14 5	2 9
3 »	17 6	17 8	18 2	17 8	3 3
4 »	19 7	19 8	19 8	19 8	»

Dans les trois exemples considérés la fermentation a débuté vers 9 heures du matin, et à 4 heures du soir elle était achevée; le phénomène de l'hydratation de l'urée s'est donc complété en 7 heures, et je n'ai pas besoin de faire remarquer qu'il a marché avec régularité en déterminant presque exactement par heure une conversion de 3 grammes d'urée en carbonate d'ammoniaque. Ce chiffre n'est pas absolu, car en répétant ces essais avec des bouillons peu nutritifs on le voit faiblir considérablement et converger vers 0 au fur et à mesure que l'on diminue la quantité de peptone dissoute dans l'eau.

Quand le bouillon est chargé d'un poids considérable de carbamide (100 gr. par litre) la fermentation s'établit encore plus lentement, puis de pénible elle devient fort active pour se ralentir à la fin de l'expérience.

Urine artificielle chargée de 100 gr. d'urée par litre

Temps	Urée disparue par litre				
	I	II	III	Moyennes	Différences
Après 24 heures	14gr 6	12gr 3	5gr 2	10gr 7 (1)	8gr 5
» 2 jours	50 3	48 0	45 7	48 0	39 5
» 3 »	78 2	80 3	85 4	81 3	33 3
» 4 »	92 6	97 1	34 5	94 7	13 4
» 5 »	99 7	99 8	99 6	99 7	»

Ainsi, c'est dans les secondes 24 heures que la fermentation prend une activité considérable, qui se maintient pendant le 3e jour, mais qui baisse durant le 4e jour et plus encore dans le 5e au moment où elle s'achève. L'*Urobacillus Pasteurii* est donc capable d'hydrater 100 grammes d'urée dissous dans un litre de bouillon peptonisé à 1 p. 100 exceptionnellement employé dans ces trois dernières expériences, pour ralentir le phénomène biologique et me permettre d'en suivre la marche par périodes de 24 heures. Mais si on augmente la nutritivité du milieu, la fermentation devient très rapide et, comme une véritable curiosité à montrer dans les laboratoires de microbiologie, je citerai l'exemple d'une fermentation où la destruction de 100 grammes d'urée a pu être obtenue en 48 heures, y compris la durée d'incubation réclamée pour le rajeunissement de l'espèce. Il serait trop long et d'un intérêt médiocre de s'étendre sur ces exemples particuliers, je dois surtout m'appliquer à étudier ceux qui se rattachent aux faits habituels et vulgaires de la biogénèse du carbonate d'ammoniaque.

Le pouvoir hydratant de l'*Urobacillus Pasteurii*, comme on a pu déjà en juger, est fort élevé, car il n'est pas fréquent de rencontrer des microbes urophages capables de compléter la fermentation d'une liqueur contenant 100 gr. d'urée par 1000 cmc. D'autre part, à considérer la facilité avec laquelle l'urobacille peut décomposer 100 grammes

(1) Le dosage de départ accuse la disparition de 2 gr. 2 d'urée par le fait de la stérilisation à 110°.

de carbamide dissous dans un litre de bouillon on pourrait penser que les solutions nutritives à 15 et 20 p. 100 d'urée subissent aisément une hydratation complète. Cette supposition ne serait pas fondée; mes expériences effectuées en vases scellés avec des doses d'urée successivement croissantes ont été très nombreuses; j'en publierai seulement les principales et on verra que la dose maximum de carbamide hydratée dans ces conditions a été trouvée une seule fois égale à 142 gr. par litre de bouillon peptonisé à 2 p. 100.

Teneur du bouillon en urée	Urée disparue par litre		
Bouillon à 50 gr. d'urée	49gr 8	49gr 6	49gr 6
» 100 »	99 9	99 9	99 5
» 150 »	132 1	128 5	142 5
» 200 »	60 3	37 8	44 0
» 300 »	2 6 (1)	2 6	2 6
» 400 »	2 6	2 6	2 6

Au-delà de 150 gr. d'urée par litre, à 200 gr, par exemple, la fermentation languit et les trois quarts de l'urée sont habituellement respectés, passé cette limite, l'hydratation ne débute même pas, le milieu étant devenu antiseptique pour la bactérie; aussi, en disant que l'*Urobacillus Pasteurii* possède une capacité fermentative voisine de 130 gr. et une rapidité d'hydratation de 3 gr. d'urée par litre et par heure, on l'aura, je crois, suffisamment caractérisé aux deux points de vue qui devaient tout d'abord attirer notre attention; il me reste à ajouter que M. Van Tieghem avait autrefois éveillé la surprise des botanistes en annonçant que la torule ammoniacale *(Micrococcus ureæ)* pouvait encore végéter dans un liquide chargé de 13 p. 100 de carbonate d'ammoniaque, c'est-à-dire là où la vie n'était plus possible pour aucune cellule ; cette limite doit être aujourd'hui reculée, car l'*Urobacillus Pasteurii* vit encore dans les milieux qui contiennent 18 à 19 pour 100, presque la cinquième partie de leur poids de carbonate

(1) Le chiffre 2 gr. 6 indique le poids de l'urée détruite par la stérilisation à 110°.

d'ammonium, et même il ne s'agit pas ici du carbonate neutre ni du bicarbonate d'ammoniaque qui est peu soluble (12,5 pour 100 dans l'eau à la température ordinaire), mais d'un mélange formé de gaz ammoniac dissout dans une solution concentrée de sesquicarbonate d'ammonium ; ces urines artificielles fermentées présentent une odeur si vive et si suffocante qu'on peut à peine en respirer les émanations pendant une seconde.

Considérations sur la nutrition du microbe. — De même que les bactéries vulgaires, l'espèce qui nous occupe forme sa cellule et son protoplasme aux dépens des aliments minéraux, albuminoïdes ou azotés répandus dans les bouillons ; il brûle de l'oxygène et dégage de l'acide carbonique, il secrète en outre une substance diastasique à laquelle est dévolu la faculté d'hydrater l'urée. Mais ce n'est pas en ce moment le point qui doit fixer notre attention. Voyons quelle est l'action directe de l'*Urobacillus Pasteurii* sur la substance fermentescible. Il est admis, et je crois que cela serait difficile à contester, que la levûre du vin ou de la bière emprunte pour se nourrir une partie de la substance même du sucre, pendant qu'elle transforme l'autre partie en alcool ; en est-il de même dans la fermentation ammoniacale, autrement dit, la transformation de l'urée en carbonate d'ammonium est-elle le fait d'une dislocation moléculaire provoquée par un acte de nutrition? Je réponds négativement, l'azote de l'urée n'est pas nécessaire à la nutrition du ferment, hors le cas où la carbamide lui est servie comme source unique d'azote. Entre l'azote de l'urée et celui de la peptone, le ferment choisit de préférence l'azote de la peptone ou de quelques autres substances albuminoïdes à défaut desquelles la fermentation évolue avec une extrême lenteur et ne se complète jamais même pour de faibles quantités de carbamide. D'ailleurs dans quelle mesure l'*Urobacillus Pasteurii* a-t-il besoin d'azote pour accomplir le phénomène biologique qu'il mène avec tant de célérité ? Cet emprunt nécessaire à la nutrition et à l'évolution de ses cellules expliquerait-il, je le répète, une disparition quelque peu sensible de la matière fermentescible?

L'analyse chimique établit qu'en présence de la peptone l'urée est transformée intégralement en carbonate d'ammoniaque et la balance démontre d'autre part que cet emprunt est si faible, que, serait-il fait à l'urée, on pourrait le considérer comme insignifiant à côté de la masse de substance fermentescible mise en œuvre et transformée durant le cours de la fermentation.

Prenons un litre de bouillon contenant 20 grammes d'urée, plaçons-le, après l'avoir ensemencé, dans une étuve chauffée à 40°. Au bout de 24 heures, la fermentation est complète, mais un trouble très léger s'aperçoit encore dans le liquide, attendons 2 à 3 jours afin que les cellules de l'urobacille tenues en suspension dans le liquide se précipitent et s'agglomèrent avec les dépôts formés au fond du vase; si on néglige cette précaution, le liquide passe louche à travers le papier. Filtrons sur un filtre taré, puis nettoyons soigneusement le vase avec une solution d'acide chlorhydrique étendue à 1 : 50, de façon à dissoudre les phosphates et carbonates précipités, cela fait, lavons longuement à l'eau distillée et desséchons pendant 24 heures le petit filtre à la température de 30°. Le poids des cellules du bacille ainsi recueillies atteint à peine la millième partie de l'urée décomposée (1). En admettant que l'azote assimilé par la cellule soit égal à la dixième partie du poids du précipité sec, c'est donc 2 milligr. d'azote que le bacille a emprunté à l'urée ou à la substance albuminoïde pour constituer le chiffre des cellules nécessaires à la transformation de 20 grammes d'urée en carbonate d'ammoniaque; ce prélèvement, l'expérience le démontre encore excessif, car si à la

---

(1) *Première expérience :* Bouillon chargé de 20 gr. d'urée.

Filtre + 0g763 = tare 1 gramme. Après la filtration du bouillon fermenté.

Filtre + 0g743.5 = tare 1 gramme.

Différence = 0g019.5, rapport = $\frac{20.000}{19,5}$ = 1025

Seconde expérience : Bouillon chargé de 30 gr. d'urée.

Filtre + 0g738 = tare 1 gramme. Après la filtration du bouillon fermenté.

Filtre + 0g717 = tare 1 gramme.

Différence = 0g021, rapport = $\frac{20,000}{21}$ = 953

Moyenne des deux rapports = 989

place d'une liqueur nutritive titrant 20 gr. d'urée par litre on en substitue une seconde chargée de 100 gr. d'urée — j'ai laissé cette fermentation s'effectuer à 30°, parce que l'espèce se précipite aisément dans un milieu aussi alcalin, — on trouve que la quantité d'azote, 2 milligr. précédemment trouvée, représente un acte de nutrition bien supérieur à celui que nécessite la fermentation de 20 gr. d'urée; en effet, le rapport entre le poids de la carbamide hydratée (100 gr.) et le poids des cellules formées par l'urobacille est égal à 1 : 2780 (1). Pour ces divers motifs, il me semble donc qu'on doit abandonner l'idée de rattacher la fermentation de l'urée à un acte de nutrition dans lequel l'urée fournirait un ou plusieurs de ces éléments à défaut desquels le phénomène de l'hydratation ne saurait se produire. On pourra objecter que mes dosages ne tiennent aucun compte des substances azotées solubles élaborées par le bacille durant sa vie, cela est exact, mais les bouillons fermentés ne m'ont pas présenté plus d'azote albuminoïde qu'ils en contenaient avant la fermentation ; au contraire, cet azote a diminué, donc l'azote de l'urée n'a pas eu besoin d'être utilisé dans le phénomène que nous étudions.

Théorie de la fermentation par l'Urobacillus Pasteurii. — Je crois déjà avoir suffisamment établi que l'urobacille n'a pas d'action directe sur la carbamide pendant la transformation biologique de cette substance, que le rôle de l'amide carbonique est purement passif, peut-être même nuisible aux actes qui doivent préparer son dédoublement. Car, comme nourriture, l'*Urobacillus Pasteurii* dédaigne l'urée et préfère incontestablement l'azote des substances protéiques à l'azote de ce corps cristallisé, excrété de l'économie animale comme résidu dorénavant impropre à un acte vital complexe ou à un acte de nutrition réel-

---

(1) *Expérience unique :* Fermentation d'un litre de bouillon chargé de 100 gr. d'urée.

Filtre + 0g 762 = tare 1 gramme. Après filtration du bouillon chargé de 100 gr. d'urée hydratée.

Filtre + 0g 726 = tare 1 gramme.

Différence = 0g 036, rapport = $\frac{100.000}{36}$ = 2780

lement réparateur. C'est donc sans sollicitation d'aucune sorte de sa part que l'urobacille vit, se multiplie et transforme secondairement, sans y toucher directement, l'urée que la plupart des savants qui se sont livrés à l'étude de cette question ont cru douée d'un pouvoir nutritif capable de favoriser la multiplication de cette catégorie de ferments, et ont pu, à l'exemple du Dr Von Jaksch, faire entrer cette substance chimique dans la composition de quelques liquides de culture. Oui, sans doute, il est des bouillons qui ne peuvent nourrir en apparence les ferments de l'urée à moins qu'on n'y ajoute un peu de cette substance, mais c'est là une illusion, car si à défaut de l'urée on alcalinise le bouillon avec du carbonate d'ammoniaque, d'une quantité égale à celle que fournit l'urée pendant la stérilisation, les cultures dans le bouillon pur alcalinisé deviennent plus prospères que dans les liquides chargés de carbamide.

Puisque l'urobacille n'a pas d'action directe sur l'urée il faut, pour que la fermentation se produise, l'intervention d'une autre force, du ferment soluble de l'urée signalé jadis par M. Musculus et dont l'existence a été de même reconnue par MM. Pasteur et Joubert. Cette zymase, d'abord secrétée par l'espèce, agit ensuite sur l'urée, et nous nous trouvons en présence d'une fermentation en deux temps.

Dans le sens attaché au mot fermentation par les physiologistes les plus distingués une fermentation en deux temps ne peut pas être une véritable fermentation « puisqu'il faut réserver ce mot aux phénomènes dans lesquels il y a nutrition d'un microbe au dépens d'un aliment déterminé dont partie entre comme élément dans les tissus de l'être, partie est éliminé avec la qualité et dans les mesures qu'exigent ses besoin vitaux » (1).

Le mot fermentation n'est donc pas applicable à la destruction de l'urée par les bactéries, et je me vois contraint par la force des faits à choisir, pour désigner ce phénomène, un nouveau terme beaucoup plus simple qui ne porte pas en lui les germes d'une définition imprudente ou prématurée ; je choisirai le mot biogénèse de l'ammoniaque

(1) Duclaux. *Chimie biologique*, page 718, 1883.

pour désigner la production du carbonate d'ammoniaque aux dépens de l'urée, comme j'ai déjà employé cette expression pour désigner la fabrication de l'hydrogène sulfuré par les bactéries.

On pourrait me reprocher d'avoir jusqu'ici plutôt affirmé la dualité de la fermentation de l'urée que de l'avoir établi par des faits irrécusables. Cette démonstration n'offre aucune difficulté pratique quand on connaît les propriétés du ferment organisé et du ferment soluble qu'il secrète.

Dans un tube à culture en ∩ renversé de M. Pasteur, plaçons dans une branche du bouillon de peptone légèrement alcalinisé et dans l'autre branche un volume égal d'eau distillée chargée de 40 p. 100 d'urée pure, de façon que le mélange ultérieur des deux liquides produise une urine artificielle à 20 p. 1000 d'urée. Stérilisons les liquides. Ensemençons le bouillon avec l'*Urobacillus Pasteurii*, plaçons cet appareil à 30°, température qui paraît être la plus favorable au développement de l'espèce, puis, quand le bacille aura troublé le bouillon, portons le système dans une nouvelle étuve chauffée vers 55°.

A ce degré de chaleur l'urobacille adulte meurt, il ne peut dans aucun cas se développer, tandis que le ferment soluble qu'il sécréte agit au contraire sur l'urée avec beaucoup d'énergie; cela connu, mélangeons à 55° les liquides des deux branches, en moins de deux heures de temps la fermentation sera complète. A l'exception d'un fait qui reste encore dans l'ombre : le mode d'action du ferment soluble sur l'urée, tout le mécanisme de la fermentation ammoniacale nous apparaît clairement à l'esprit ; dans cette fermentation, un acte physiologique commence par se produire d'abord et un acte purement chimique le suit, à la volonté de l'expérimentateur, ou tout de suite si l'urée est dissoute dans le bouillon, ou plus tard, à 8 jours, un mois d'intervalle si tel est son bon plaisir. Chose remarquable, l'acte physiologique qui correspond au développement du microbe et la sécrétion de l'urase (1) a son optimum de température vers 30 ou 35°

(1) Ferment soluble de l'urée en adoptant la terminologie de M. Duclaux.

alors que la température la plus favorable à l'action du ferment soluble est située vers 55°. Non seulement la fermentation de l'urée est un phénomème s'accomplissant en deux temps bien distincts par deux actions bien distinctes, l'une physiologique, l'autre chimique, mais il n'existe aucune concordance dans les conditions qui favorisent l'énergie maximum de ces deux actions.

En étudiant de plus près quelques autres fermentations on arrivera de même, j'en ai la conviction, à séparer l'acte physiologique de l'acte chimique qui semblent se confondre dans les conditions habituelles. Les belles recherches de MM. Roux et Yersin, dans le domaine de la pathologie microbienne, ont conduit ces deux savants à des résultats semblables; ils ont pu, par des cultures spéciales du bacille de la diphtérie, séparer nettement l'acte physiologique, vie du microbe et sécrétion d'une diastase, de l'intoxication produite par le ferment soluble, phénomènes qui, chez les malades, sont concomittants, la diastase étant utilisée au fur et à mesure de sa production.

(A suivre).

DESCRIPTION D'UN NOUVEAU PROCÉDÉ

D'ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE L'AIR

PAR

Le Dr FORSTETTER

Les procédés actuels pour l'analyse bactériologique de l'air présentent, en dehors de quelques légères imperfections propres à chacun d'eux, le défaut commun d'exiger des appareils peu portatifs, d'obliger que les différents temps de l'analyse soient exécutés dans plusieurs vases ou récipients distincts, ce qui laisse, malgré toutes les précautions dont on peut s'entourer, la porte ouverte à plusieurs causes d'erreurs. Ces défauts et ces difficultés, qu'on remarque dans le dosage des poussières atmosphériques, ont une importance capitale, car, de l'aveu des expérimentateurs, l'air doit être commodément examiné, non seulement dans quelques laboratoires, mais partout où cela peut être jugé utile, dans les villages, les hôpitaux, les théâtres, les wagons de chemins de fer, etc., examen qui nous paraît devoir fournir des résultats bien plus intéressants à connaître que ceux qui résultent d'une série d'analyses exécutées dans quelques centres universitaires.

Un appareil parfaitement transportable, permettant d'effectuer aisément dans le même vase toutes les phases de l'expérience, nous semble seul atteindre les desiderata demandés, et capable de permettre aux médecins non spécialistes dans les études bactériologiques, de pratiquer l'analyse de l'air en dehors de toute installation et à n'im-

porte quel lieu. Ce n'est qu'au prix de ces analyses, facilement exécutées par les praticiens des diverses localités, qu'on arrivera à recueillir des travaux précieux, profitables à l'hygiène.

Mon microbiomètre (voir fig. 1) se compose essentiellement d'un tube de verre de diamètre variable, recourbé en une spirale aplatie, qui se décompose : en une branche verticale se recourbant en U, suivie d'une vaste ampoule soufflée M, communiquant par un tube courbe à un tube à essai dont la partie inférieure est soufflée de façon à pouvoir contenir une quantité suffisamment élevée de gélatine nutritive.

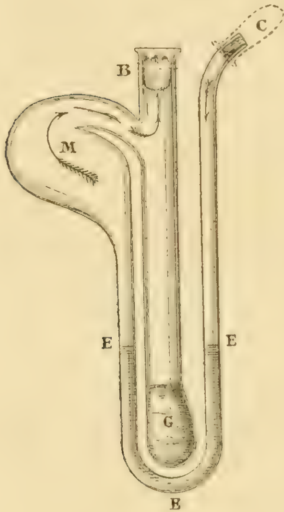


Fig. 1. — EEE, eau stérilisée; M, ampoule où s'effectue le mélange de l'eau et de la gélatine ; — G, gélatine stérilisée ; B, bourre de coton ; — C, deuxième bourre de coton et capuchon de caoutchouc en traits pointillés.

L'appareil présente deux ouvertures, l'une en C pour l'entrée de l'air, l'autre en B pour sa sortie; c'est à cette dernière branche qu'on adapte le tube destiné à produire l'aspiration.

Voici maintenant comment l'appareil peut être utilisé. Avant l'usage, on introduit dans la branche en U EEE extérieure, environ 10^{cmc} d'eau distillée, et dans la branche fermée centrale 15^{cmc} de gélatine nutritive à 12 pour 100; les ouvertures C et B reçoivent une bourre de ouate, et le système est stérilisé à l'autoclave, ou dans tout autre appareil à vapeur. L'instrument refroidi est garni de deux capuchons de caoutchouc et se trouve prêt pour voyager et fonctionner où il plaira à l'expérimentateur.

Au moment de l'analyse, la branche ouverte extérieure C est débarrassée de son capuchon et de sa bourre, on met en communication avec l'aspirateur la branche centrale, et on fait passer l'air avec lenteur, 10 litres environ à l'heure; l'air traverse en petites bulles une colonne

d'eau d'environ 10 cmc. de longueur, et les germes se fixent dans ce parcours, soit sur les parois humides du tube en U, soit dans le véhicule liquide.

Le passage de l'air terminé, on peut procéder à l'instant aux manipulations complémentaires du dosage, ou les retarder jusqu'au retour de l'expérimentateur à son domicile. Dans ce dernier cas, on replace les capuchons de caoutchouc aux extrémités ouvertes de l'instrument.

La fin de l'expérience se conduit de la manière suivante : on fait fondre au contact d'une douce chaleur, devant le feu, au soleil, à défaut d'une étuve, la gélatine contenue dans le tube central, puis, les capuchons étant ôtés, on incline le tube dans la position indiquée par la fig. 2. La gélatine fondue et l'eau qui a tiédi pendant qu'on a chauffé la gélatine, coulent aisément et se rassemblent dans l'ampoule M, où on les mélange avec soin. Il ne reste plus qu'à répartir ce mélange en plaques, ce à quoi on parvient aisément en inclinant l'appareil dans un sens opposé à celui qu'indique la fig. 2, et en se servant de l'instrument comme d'une burette chimique de Gay-Lussac.

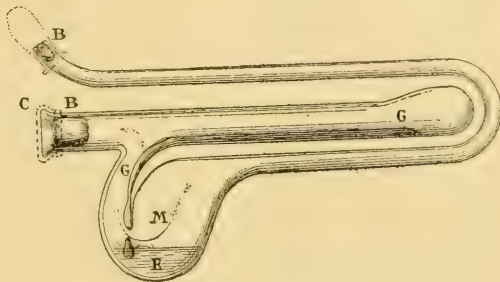


Fig. 2. — E, eau amenée dans l'ampoule M ; — GG, gélatine coulant dans l'eau ; — BB, bourres de coton ; — C, capuchon de caoutchouc en traits pointillés.

Plus tard, en comptant le nombre de colonies écloses sur les plaques et sur la gélatine qui a pu rester fixée aux parois intérieures de mon microbiomètre, on arrive à déduire aisément la richesse en bactéries et en moisissures de l'air analysé.

L'aspirateur que j'emploie est de même un instrument portatif, pouvant permettre un appel d'air de 10 litres en une demi-heure. Il consiste en un mouvement d'horlo-

gerie agissant sur deux soufflets de caoutchouc ayant la forme d'une lanterne chinoise, et capables d'aspirer dans un seul mouvement 50 cmc. d'air; un cadran muni d'une aiguille indique à chaque instant la quantité d'air passée. J'ajouterai aussi que, pour attirer plus sûrement tous les microbes de l'air dirigé dans mon instrument, je le mets en communication avec une petite machine fournissant de l'électricité statique, de même actionnée par le mouvement d'horlogerie de l'aspirateur, ce qui amène les poussières de l'air en contact avec les parois internes du barboteur. Quelques essais, en voie d'exécution, me font espérer que je pourrai remplacer dans mes instruments l'eau sur des filtres solides, je me réserve de revenir ultérieurement sur cette question. Le bagage nécessité par ces analyses bactériologiques se résume donc en deux simples boîtes, l'une contenant l'aspirateur mécanique, l'autre une douzaine de tubes à expérience et une douzaine de plaques de verres circulaires pour répandre la gelée.

En terminant cette description, nous croyons utile de relever les points suivants relatifs à ce nouveau procédé de dosage des bactéries atmosphériques :

1° Les microorganismes enrobés dans la gélatine sont bien humectés, et leur développement est ainsi assuré;

2° L'agitation qui se fait au préalable dans la chambre de verre à l'abri du contact de l'air amène, dans la mesure du possible. la séparation des germes accolés;

3° L'expérience se passant dès le début et jusqu'à la la fabrication des plaques dans un même vase à l'abri des poussières atmosphériques, l'introduction accidentelle des microbes étrangers est rendue impossible;

4° L'appareil est de dimension telle qu'une petite étuve suffit pour en stériliser une douzaine à la fois. Son petit volume le rend en outre d'un transport facile;

5° Pas un germe ne peut passer inaperçu, puisque les microorganismes restés adhérents aux parois du vase donnent, avec la gélatine retenue sur ses parois, des colonies faciles à dénombrer;

6° La forme de l'appareil permet de s'assurer si plusieurs

germes ont échappé à l'analyse, en permettant de pratiquer les expériences de contrôle;

7° Enfin, l'appareil peut être mis en communication avec n'importe quel genre d'aspirateur.

Les diverses pièces de mon instrument ont été récemment présentées au Congrès de Thérapeutique de Paris, et se trouvent actuellement déposées dans la Section russe à l'Exposition internationale de 1889.

DE L'ENREGISTREMENT
DES POUSSIÈRES ATMOSPHÉRIQUES
BRUTES ET ORGANISÉES

PAR

MM. P. MIQUEL et L. BENOIST

On a pu lire, dans ce journal, la technique des analyses quantitatives et qualitatives des bactéries atmosphériques, où ont été exposées les diverses opérations qui constituent un dosage précis des germes de l'air. A côté de ces procédés, qui réclament la présence constante de l'expérimentateur, il en existe d'autres assurément plus approximatifs qui, tout en étant dépourvus de la rigueur des premiers, sont cependant susceptibles de fournir des résultats très intéressants; nous voulons parler des appareils enregistreurs des poussières brutes, des spores cryptogamiques et des bactéries atmosphériques.

Ces appareils sont basés sur le principe des instruments appelés *aéroscopes,* dont le premier a été construit et décrit par Pouchet en 1860, et le second en 1870 par le docteur Maddox, qui fit faire de si grands progrès à l'aéroscopie. Les analyses qualitatives obtenues avec ces instruments reposent sur la propriété que possède un filet d'air dirigé normalement sur une surface plane, poisseuse, d'y abandonner la majeure partie des corpuscules qu'il entraîne avec lui.

Les Drs Pouchet, Maddox, Cunningham, recevaient les poussières sur une lamelle mince fixe. Les aéroscopes enregistreurs, construits sur les plans fournis par l'Observatoire de Montsouris, sont basés sur la mobilité de la lamelle qui reçoit le jet d'air; l'aspiration déterminée par des trompes à eau fonctionnant uniformément, force l'air

à se précipiter par un orifice fixe sur une plaque se mouvant uniformément.

Dans le principe, les poussières étaient recueillies sur une lame porte-objet, graduée en espaces horaires, qu'entraînait une vis dans un mouvement rectiligne (aéroscope construit en 1883 par MM. Richard frères). Aujourd'hui, cette plaque est circulaire, et le nouvel appareil est construit, depuis 1887, par M. Démichel, successeur de M. Salleron; c'est de ce dernier instrument dont nous allons donner une description rapide.

Cet appareil se compose d'une pendule-réveil bien réglée MM (voir fig. 1), dont le mouvement est retouché de façon

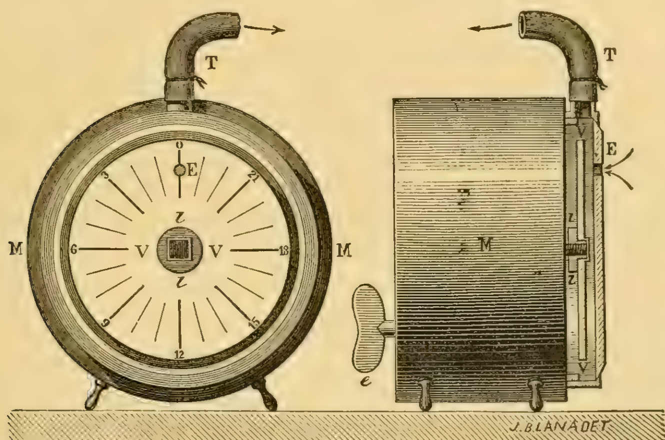


Fig. 1. MM, pendule-réveil; VV, disque de carton on verre gradué en espaces horaires *ii*, manchon métallique; E, ouverture circulaire; T, tube d'aspiration; *e*, clef du réveil.

que l'aiguille des heures fasse le tour du cadran en vingt-quatre heures. Sur l'axe de cette aiguille, terminée en tige carrée, s'emboîte un manchon *i i*, destiné à recevoir, suivant les cas, un disque de carton ou de verre (V V), portant les heures du jour comme la fig. 2 en montre un spécimen.

Ce disque est isolé de l'air extérieur par une sorte de couvercle vitré qui se visse au réveil et vient buter contre un anneau de caoutchouc ou de cuir.

Ce couvercle est muni latéralement d'une tubulure T, la

vitre du couvercle est percée d'une ouverture E, circulaire ou diamétralement linéaire, suivant qu'on veut enregistrer les poussières brutes, les spores de cryptogames ou les bactéries atmosphériques. Le fonctionnement de cet instrument est aisé à saisir : la tubulure T est mise en communication avec une trompe aspirante, débitant d'une manière uniforme un volume égal d'air à toutes les heures du jour. L'air aspiré, suivant la direction des flèches, se précipite sur le disque, où il abandonne les poussières qu'il tient en suspension; au bout de vingt-quatre heures, on met fin à l'expérience et on dépouille les résultats obtenus.

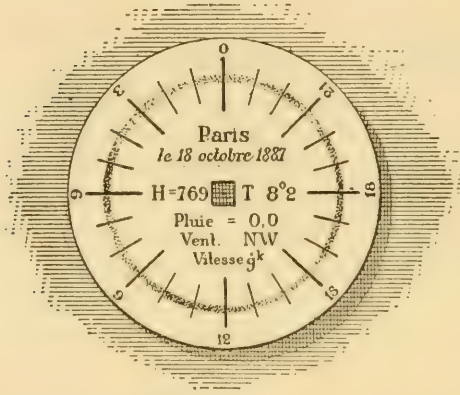


Fig. 2. Spécimen de l'enregistrement des poussières brutes de l'atmosphère.

Enregistrement des poussières brutes. — Pour étudier les variations des poussières brutes de l'atmosphère, on peut se servir d'une plaque circulaire de papier bristol graduée par la lithographie, ainsi que la fig. 2 en donne une idée exacte. Ce disque, légèrement imbibé d'un peu d'eau glycérinée qui l'entretient dans un état de moiteur favorable à la fixation des poussières, est placé sur l'axe carré, où on le fixe avec un peu de cire molle. On place vis-à-vis de l'ouverture circulaire du couvercle l'heure à laquelle l'expérience commence, puis on détermine un courant d'air régulier d'environ 100 litres à l'heure.

Si l'air est suffisamment chargé de poussières, on voit se former sur le disque de carton une traînée colorée concentrique, d'intensité variable, dont l'étude n'est pas sans offrir un certain intérêt. Pour fixer invariablement les poussières ainsi recueillies, on jette le disque sur une couche liquide très légère de vernis blanc à la gomme

laque, de façon à ce que le vernis pénètre lentement du *verso* au recto du bristol.

La fig. 2 représente un de ces disques de carton après une expérience de minuit à minuit, effectuée le 18 octobre 1887, à la caserne de Lobau, avec l'air de la place Saint-Gervais.

Comme il est inutile de le faire remarquer, le disque tournant de droite à gauche, la lecture de la traînée de poussière doit se faire de gauche à droite ; dans le cas présent, elle exprime que de minuit à 5 h. du matin l'air de Paris s'est montré peu chargé de poussières, que de 5 h. à 6 h. une recrudescence s'est produite assez subitement : c'est en effet au moment du balayage et du nettoyage du large trottoir qui est sous-jacent à 4 m. du lieu où est disposé l'aéroscope ; à 8 h. du matin, une seconde recrudescence s'accentue ; on la voit passer par un maximum entre 10 h. et 11 h. puis aller lentement en décroissant. A la 15e heure (3 h. de l'après-midi), l'air a récupéré sa pureté habituelle ; vers 6 h. apparaît un second maximum suivi d'une nouvelle décrue de poussières brutes et d'un nouveau maximum beaucoup moins sensible, situé entre les 21e et 22e heures (9 h. et 10 h. du soir).

Enregistrement des spores cryptogamiques. — Quand on veut étudier les variations du chiffre des spores aériennes des cryptogames, on substitue au disque de carton dont il vient d'être parlé un disque de verre de même diamètre, sur lequel sont gravées les vingt-quatre heures du jour. Ce disque, mis en place, on l'enduit au pinceau, sur une zône concentrique assez étendue, d'un vernis gras peu siccatif.

L'expérience est conduite comme pour l'enregistrement des poussières brutes, avec cette différence que l'on réduit à 25 litres environ le volume de l'air aspiré par heure ; l'ouverture diaphragmique doit être ici linéaire, de façon à obtenir une répartition assez exacte des spores dans les segments horaires de la zone gravée ; l'expérience achevée, le disque est porté sous le microscope, et l'on procède au dénombrement des germes contenus dans les espaces horaires. Pour opérer ce comptage avec facilité, M. Nachet a

construit pour l'observatoire de Montsouris une platine de microscope spéciale, douée d'abord des mouvements rectangulaires habituels et portant une platine annulaire circulaire supplémentaire, tournant sur elle-même, et dans laquelle s'encastre le disque de verre. Le tout est recouvert d'un tambour vitré fixe, dans une des parties latérales duquel est ménagée une ouverture pour le passage de l'objectif du microscope.

Quant au dénombremeut des spores contenues dans chaque espace horaire, il s'effectue, en calculant le nombre des spores vues par champ, et en prenant la moyenne de 100 observations semblables. Au total, le dépouillement de ces expériences réclame 2,400 lectures de champs, qu'on peut répartir à volonté en une ou plusieurs semaines.

Enregistrement des germes des bactéries. — Pour obtenir les variations du chiffre des bactéries aériennes, on peut aussi employer des disques de bristol, avec les indications horaires imprimées à l'encre grasse que la couche nutritive laisse voir à travers son épaisseur, mais en employant les petites rondelles de 5 centimètres de diamètre, telles qu'elles peuvent être contenues dans l'appareil (fig. 1) déjà décrit, les colonies obtenues empiètent trop les unes sur les autres, et les espaces horaires sont beaucoup trop étroits, c'est pour cette raison que nous avons fait construire un aéroscope enregistreur beaucoup plus grand dont la planche V donne aux fig. 1 et 2 la projection antérieure et la coupe.

Cet appareil est formé d'une boîte métallique cylindrique de 0^{m}20 de diamètre dont l'une des faces ouverte peut être obturée hermétiquement au moyen d'un grand disque de verre placé entre deux lames annulaires de caoutchouc, qu'on serre au moyen de six écrous à oreilles sur le rebord de la boîte. A la face opposée au disque de verre se trouve suspendu dans l'axe du cylindre un mouvement d'horlogerie de M. Richard frères, accomplissant un tour en un jour ou en une semaine; ce mouvement d'horlogerie porte un couvercle, et c'est sur ce couvercle qu'on fixe au moyen d'une petite vis de pression le papier nutritif.

L'appareil est monté sur un socle de bois et porte laté-

ralement deux robinets pouvant le mettre en rapport avec une ou deux trompes aspirantes.

L'air aspiré est projeté au moyen d'une fente *ff*, diamétrale de 6 centimètres de longueur sur le disque de papier nutritif, y sème méthodiquement les germes qu'il renferme, et dont on favorise plus tard le développement et la croissance.

Le papier nutritif se fabrique en versant sur du bristol fort, verni à la gomme laque, une couche de 5 millimètres d'epaisseur de gelée de lichen au bouillon de bœuf ou à la peptone; cette gelée doit être glycérinée à 1 pour 100, contenir fort peu de sel marin, 1 à 2 pour 1,000 et posséder une alcalinité très manifeste; si la gelée nutritive était neutre ou très légèrement alcaline, le terrain serait promptement la proie des moisissures, et les colonies bactériennes pourraient être noyées ou détruites par les mycéliums.

Le papier enduit de gelée est ensuite séché rapidement, puis découpé, enfermé dans du papier Joseph et stérilisé à 110°, à l'abri des gouttes d'eau qui peuvent se condenser pendant l'échauffement ou le refroidissement de l'autoclave. Il nous paraît inutile d'ajouter que ce papier doit passer avec rapidité de son enveloppe aseptique dans l'aéroscope, qu'il doit être manié avec des pinces flambées, et, après le passage de l'air porté, sans délai sous la cloche où la gelée doit être soumise au regonflement.

Pour opérer ce regonflement, et rendre à la gelée de lichen sèche ses propriétés nutritives à l'égard des germes qui ont été déposés à sa surface, on peut employer le procédé suivant :

Au sortir de l'aéroscope, le disque de papier est placé sur une boîte cylindrique argentée ou nickelée B (fig. 3) recouverte d'une cloche bitubulée latéralement. On commence par faire circuler un courant d'eau froide dans la boîte B par les tubes E et E′, de façon à déter-

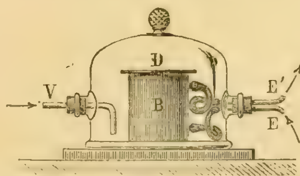


Fig 3. B, boîte métallique alimentée par les conduites d'eau E E′; V, tube par lequel on introduit la vapeur; D, disque de papier nutritif.

miner le refroidissement de la rondelle D; alors, par le tube opposé V, on envoie un peu de vapeur qui se répand dans la cloche et se condense sur les parties froides de la boîte et sur le disque D ; l'opération doit être conduite avec lenteur, de façon à déterminer le gonflement progressif et uniforme de la couche de gelée qui ne tarde pas à récupérer une hauteur presque égale à la hauteur que possédait la couche de gelée fraîche. On laisse alors les microbes incuber pendant une quinzaine de jours.

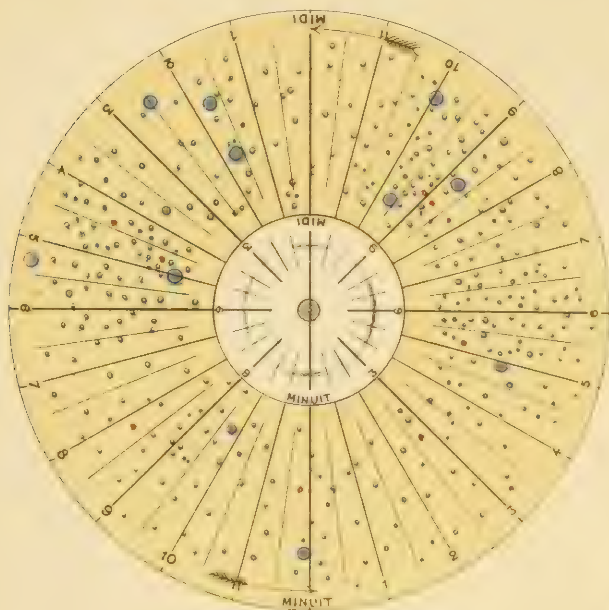
Quand on juge les colonies suffisamment développées, on sèche rapidement le disque puis on procède ensuite à la coloration des taches microbiennes.

A cet effet le disque est plongé quelques minutes dans une solution d'alun, puis lavé dans de l'eau, et, au sortir de ce bain, jeté dans une cuvette contenant une solution d'acide sulfindigotique (solution de 2 gr. d'indigo pur dans l'acide de Nordhausen, le tout étendu à 1.000 cmc.). Au contact de cette liqueur, le papier et les bactéries se colorent promptement en bleu; on pousse au noir la teinte des colonies qui se détachent très visiblement sur la teinte moins foncée acquise par la gelée.

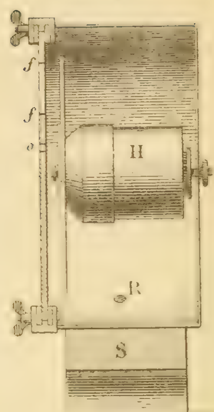
Pour remplacer le fond bleu clair de la gelée par le fond jaune léger du papier nutritif : au sortir de la solution d'indigo, on lave le papier dans de l'eau et on le plonge dans un bain de permanganate de potasse à 1 p. 1.000; la gelée bleu clair passe au violet, puis au rose ; on lave une 3e fois à l'eau pure, et l'opération est terminée. Il importe de surveiller attentivement la décoloration par le permanganate de potasse, dont l'action trop prolongée affaiblirait la teinte des colonies. Pour arrêter instantanément l'action de cette dernière substance, on peut au besoin tremper le disque dans une solution de 3 ou 4 p. 100 d'acide oxalique.

Ce procédé de coloration est donc basé sur la plus grande affinité de l'indigo pour les microphytes que pour la gelée de lichen. Les mycéliums des mucédinées, les bactéries vulgaires, se colorent fort bien dans l'espace d'une minute, mais il existe plusieurs espèces chromogènes sur lesquelles l'indigo n'a pas d'action, certaines colonies rouges et jaunes conservent leur couleur propre, cela n'offre aucun inconvénient, puisque le but de l'opération

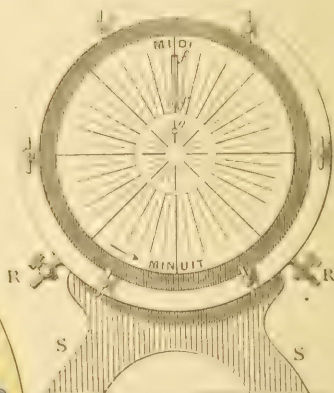
3.



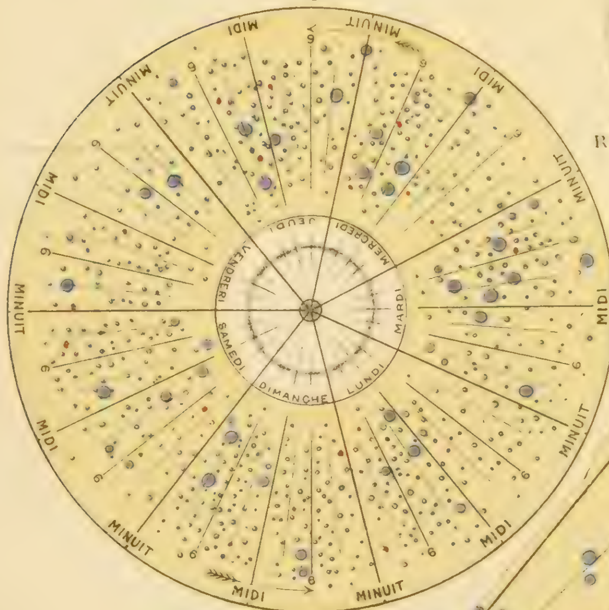
1



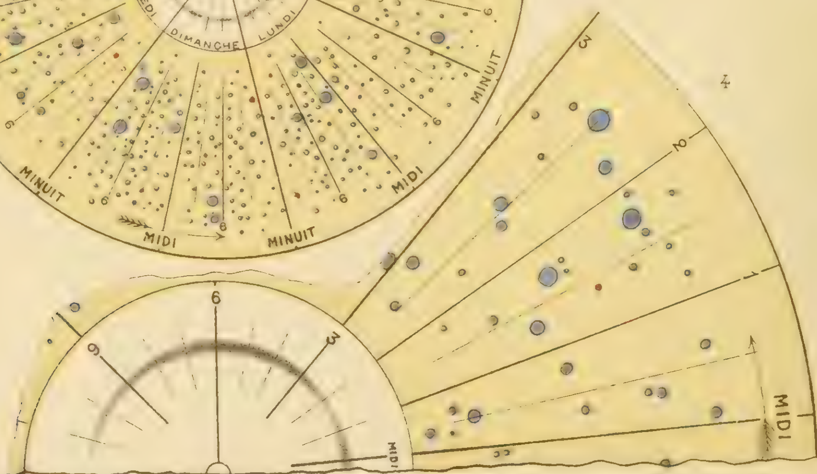
2



5



4



Imp. A. Lafontaine, 150, Bd du Montparnasse. E. Oberlin

précédente est de rendre apparentes les colonies qui seraient à peu près invisibles sur le papier nutritif sec.

Le même appareil enregistreur, figuré en 1 et 2 de la planche V, peut également servir à obtenir l'enregistrement des poussières brutes, ainsi qu'on en voit des exemples dans les spécimens des fig. 3, 4 et 5 de la même planche, ou encore donner simultanément avec l'enregistrement des semences bactériennes, les variations des spores cryptogamiques : il suffit, pour obtenir ce résultat, de percer sur le même rayon deux nouvelles ouvertures dans la glace de l'enregistreur ; une au voisinage du centre pour récolter les spores sur le disque gradué de verre, et l'autre un peu plus haut au voisinage de la partie inférieure de la fente destinée à répartir les poussières de l'air sur le papier nutritif.

Telles sont, succinctement, les méthodes faciles à appliquer qui nous paraissent devoir fournir quelques indications utiles et intéressantes dans l'analyse comparative des divers éléments vivants et inorganisés charriés par les grands courants de l'atmosphère, ou tenus en suspension et accidentellement soulevés dans l'intérieur des habitations, des hôpitaux, des ateliers, en un mot dans toutes les atmosphères confinées.

EXPLICATION DES FIGURES

Planche V.

Fig. 1. — Coupe de l'aéroscope enregistreur à $1/5$ de la grandeur naturelle. — *H*, mouvement d'horlogerie ; *R*, ouverture intérieure d'un des deux robinets ; *SS*, Socle de l'appareil ; *ff*, Fente linéaire ; *O*, Ouverture circulaire.

Fig. 2. — Aéroscope enregistreur vu de face à $1/5$ de grandeur naturelle ; *RR'*, Robinets en communication avec les trompes ; *SS*, Socle de l'instrument.

Fig. 3. — Enregistrement diurne des bactéries et des poussières brutes de l'atmosphère, spécimen à moitié grandeur naturelle.

Fig. 4. — Fragment du même disque vu grandeur naturelle.

Fig. 5. — Enregistrement hebdomadaire des bactéries et des poussières atmosphériques, spécimen à moitié grandeur naturelle.

TABLE DES MATIÈRES[1]

A

B

(1) Les articles précédés d'un astérisque ont fait l'objet d'un travail original publié dans les *Annales de Micrographie*.

C

D

E

G

H

I

J

K

L

M

N

O

P

R

S

T

U

V

W

Z



L'Éditeur-Gérant :

GEORGES CARRÉ.

TROYES-PARIS, IMP. DUFOUR-BOUQUOT